PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*(L) Urban) DAN BELUNTAS (*Plucea indica.* (L) Urban) TERHADAP JUMLAH FOLIKEL, KADAR SOD DAN MDA OVARIUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus)*

SKRIPSI

Oleh :

MUKHOLIFAH

NIM: 11620058

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 (*Plucea indica.* (L) Urban) TERHADAP JUMLAH FOLIKEL, KADAR SOD DAN MDA OVARIUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)

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:
MUKHOLIFAH
11620058

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2015

PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L) Urban) DAN BELUNTAS (*Plucea indica.* (L) Urban) TERHADAP JUMLAH FOLIKEL, KADAR SOD DAN MDA OVARIUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus)*

SKRIPSI

Oleh:
MUKHOLIFAH
11620058

Telah disetujui oleh :

Dosen Pembimbing I	DosenPembimbing II
Dr.drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si	**Mujahidin Ahmad,M.Sc**
NIP. 19710919 200003 2 001	**NIPT. 201309021 313**

Tanggal, 02 November 2015
Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi

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

PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L) Urban) DAN BELUNTAS (*Plucea indica.* (L) Urban) TERHADAP JUMLAH FOLIKEL, KADAR SOD DAN MDA OVARIUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus)*

SKRIPSI

Oleh:
MUKHOLIFAH
11620058

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji skripsi dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal 05 November 2015

Susunan Dewan Penguji		Tanda Tangan
1. Penguji Utama	Dr. Retno Susilowati, M.Si NIP. 19671113 199402 2 001	( )
2. Ketua	Kholifah Holil, M.Si NIP. 19751106 200912 2 002	( )
3. Sekretaris	Dr.drh.Bayyinatul M.,M.Si NIP.19710919 200003 2 001	( )
4. Anggota	Mujahidin Ahmad, M.Sc NIPT.2013 09021 313	( )

Mengetahui dan Mengesahkan
Ketua Jurusan Biologi

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

SURAT PERNYATAAN

ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama	: MUKHOLIFAH
NIM	: 11620058
Fakultas / Jurusan	: Sains dan Teknologi / Biologi
Judul Penelitian	: Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan Beluntas (*Plucea indica* (L) Urban) terhadap Jumlah Folikel, Kadar SOD dan MDA Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Menyatakan dengan sebenar benarnya bahwa hasil penelitian saya ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskahini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggungjawabkan, serta diproses sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 23 November 2015

Yang Membuat Pernyataan,

Mukholifah

NIM. 11620058

MOTTO

Ibu dan Bapak
adalah Semangat dan Inspirasiku

Lembar Pengesahan

Alhamdulillahirobbil'alamin

Karya sederhana ini kupersembahkan untuk :

Bapak dan Ibuku tercinta (Bapak H.Muhammad Supra'i - Ibu Sa'atun) terima kasih tiada tara dan tiada terhingga, berkat do'a panjenengan Olif bisa sampai jenjang S1. Untuk saudaraku tersayang adhekku (Rois), dan kakak''ku (cak Tabah, k'Abdurrohim, k'Mansur, dan k'Ali) dan mb Iparku (mb Siti dan mb Asnani) dan ponakanku si kecil'' Nawa, Aris, Nurul dan Sherly tersayang yang selalu memberi semangat dan dukungan. Semua keluarga besar yang telah mendo'akan dan memberi yang terbaik untukku sampai sekarang.

Terimakasih kepada dosen pembimbing ibu Bayyinatul Muchtaromah dan bapak Mujahidin Ahmad. Semoga senantiasa diberi umur panjang, sehat, dan ilmu yang telah diberikan mendapat barokah dari Allah. Dan terimakasih kepada Laboran mas Basyar dan mas Abi yang senantiasa meluangkan waktu untuk berbagi ilmu dan memberikan masukan-masukan yang bermanfaat.

Terima kasih teman-teman Biologi 2011, teman-teman seperjuanganku Sari, Hesti, Ihda dan Amanah terima kasih banyak kuucapkan, berkat kekompakan kita, dan dorongan semangat dari kalian aku bisa menyeleseikan karya sederhana ini. Aku juga minta maaf jika selama penelitian ini aku ada salah dengan kalian.. fighting sobat….

Terima kasih kuucapkan kepada semua santriwan-santriwati **PESANTREN LUHUR** khusus saudaraku mb Bibin dan Idut yang memberikan semangat, saran dan do'anya.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur kehadirat Allah ﷻ, yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, dan hidayah serta inayah-Nya tiada henti dan tiada terbatas kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan lancar. Shalawat dan salam semoga terucap kepada baginda Nabi Muhammad ﷺ, yang telah membimbing dan menuntun manusia ke jalan yang benar.

Skripsi dengan judul "Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan Beluntas (*Plucea indica* (L) Urban) terhadap Jumlah Folikel, Kadar SOD dan MDA Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)" dapat disusun dan diselesaikan dengan baik karena dukungan, motivasi serta bimbingan dari berbagai pihak. Tidak ada kata dan perbuatan yang patut terucap dan terlihat untuk menguntai sedikit makna kebahagiaan diri. Oleh karena itu, izinkan penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si selaku Rektor UIN Maliki Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
4. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.

5. Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah meluangkan waktunya, menyalurkan ilmunya serta bimbingannya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
6. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Dosen Wali selama penulis menempuh kuliah di UIN Maliki Malang.
7. Segenap Dosen Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang yang telah membimbing dan memberikan ilmunya dengan penuh kesabaran dan keikhlasan.
8. Seluruh staf laboratorium (mbak Zaim, mbak Retno, mas Basyar, mas Ismail, mas Abi, mas Zulfan, mbk Lil) Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
9. Bapak dan Ibu tercinta yang selalu memberikan do'a, semangat, motivasi serta nasihat-nasihat dengan penuh keikhlasan, kesabaran, serta kasih sayang yang tidak terbalaskan sehingga penulis bisa mengenyam pendidikan setinggi ini.
10. Keluarga besarku yang telah memberikan do'a dan dukungan pada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
11. Teman-teman Biologi angkatan 2011 khususnya temen-temen tim penelitian reproduksi, temen-temen LEMBAGA TINGGI PESANTREN LUHUR MALANG yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu . Terima kasih atas semua do'a dan dukungannya. Saya yakin kerja keras dan semangat pantang menyerah akan membuahkan hasil.

Tidak ada kata yang patut terucap selain ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan doa semoga amal baik mereka mendapat Ridho dari Allah SWT. Penulis menyadari akan banyaknya kekurangan dalam skripsi ini dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi diri penulis dan semua pembaca.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 2 November 2015

Penulis

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM PUSAT PERPUSTAKAAN

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGAJUAN i

HALAMAN PERSETUJUAN ii

HALAMAN PENGESAHAN iii

HALAMAN PERNYATAAN iv

HALAMAN MOTTO v

HALAMAN PERSEMBAHAN vi

KATA PENGANTAR vii

DAFTAR ISI x

DAFTAR GAMBAR.....xiii

DAFTAR TABEL xiv

DAFTAR LAMPIRAN xv

ABSTRAK xvi

BAB I PENDAHULUAN 1

1.1. Latar Belakang 1

1.2. Rumusan Masalah 7

1.3. Tujuan Penelitian 8

1.4. Hipotesa 8

1.5. Manfaat Penelitian 8

1.6. Batasan Masalah 9

BAB II KAJIAN PUSTAKA 10

2.1. Deskripsi Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban).....10

2.1.1. Morfologi Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) 10

2.1.2. Klasifikasi Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban).....12

2.1.3. Kandungan Bahan Aktif Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) 14

2.2. Deskripsi Beluntas (*Plucea indica* (L) Urban) 18

2.2.1. Morfologi Beluntas (*Plucea indica* (L) Urban) 18

2.2.2.. Klasifikasi Beluntas (*Plucea indica* (L) Urban) 19

2.2.3 Kandungan Bahan Aktif Beluntas (*Plucea indica* (L) Urban) 20

2.3. Biologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) 24

2.4. Morfologi dan Anatomi Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) 27

2.5. Fisiologi Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) 30

2.6. Mekanisme Hormonal Hewan Betina 34

2.7. Mekanisme Kerja Bahan Aktif Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan Beluntas (*Plucea indica* (L) Urban) pada Organ Reproduksi 38

2.8. Radikal Bebas 41

2.9. Antioksidan 42

2.10. Melondialdehide.....45

BAB III METODE PENELITIAN 47

3.1. Rancangan Penelitian 47

3.2. Variabel Penelitian 47

3.3. Tempat dan Waktu 48

3.4. Populasi dan Sampel 48

3.5. Alat dan Bahan 48

3.6. Kegiatan Penelitian 49

3.6.1 Persiapan Hewan Coba 49

3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel 49

3.6.3 Pembuatan Ekstrak dan Penyerentakan Siklus Birahi 50

3.6.4 Pembuatan Sediaan Larutan Na CMC 0.5% 50

3.6.5 Pemberian Perlakuan dan Pengambilan Sampel 51

3.6.6 Pembuatan dan Pengamatan Preparat Histologi 51

3.6.7 Pengujian Antioksidan 54

3.6.7.1 Pengujian Kadar SOD (*Superoksida dismutase*) 54

3.6.7.2 Pengujian Kadar MDA (*Melondealdehide*) 55

3.7. Data dan Analisa Data 56

BAB IV PEMBAHASAN 57

4.1. Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan Beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban) terhadap Jumlah Folikel Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). 57

4.2. Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan Beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban) terhadap Kadar SOD (*Superoksida dismutase*) Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). 69

4.3. Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan Beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban) terhadap Kadar MDA (*Medondealdehide*) Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). 76

4.4. Kajian Al-Qur'an dan As-Sunnah Terkait Hasil Penelitian 82

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 90

5.1 Kesimpulan 90

5.2 Saran 90

DAFTAR PUSTAKA 91

LAMPIRAN 100

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Gambar Tumbuhan Pegagan (Centella asiatica (L.) Urban) 12
Gambar 2.2 Gambar Tumbuhan Beluntas (Plucea indica (L) Urban)..... 19
Gambar 2.3 Gambaran Anatomi Ovarium Tikus Normal..... 30
Gambar 4.1 Irisan Melintang Ovarium Penelitian 59
Gambar 4.2 Nilai Rata-Rata Peningkatan Kadar SOD 71
Gambar 4.3 Nilai Rata-Rata Peningkatan Kadar MDA 77

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM PUSAT PERPUSTAKAAN

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Senyawa Triterpenoid pada Pegagan 15
Tabel 2.2 Kadar Uji Fitokimia pada Beluntas 20
Tabel 4.1 Jumlah Folikel Ovarium Pengamatan 60
Tabel 4.2 Ringkasan Anava 1 Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Jumlah Folikel Ovarium 62
Tabel 4.3 Ringkasan BNT 5% tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Perkembangan Folikel Primer 67
Tabel 4.4 Ringkasan Anava Jalur 1 tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Kadar SOD Ovarium 72
Tabel 4.5 Ringkasan BNT 5% tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Kadar SOD Ovarium Tikus Putih 72
Tabel 4.6 Ringkasan Anava Jalur 1 tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Kadar MDA Ovarium Tikus 78
Tabel 4.7 Ringkasan BNT 5% tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Kadar MDA Ovarium 78

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Data Jumlah Folikel Ovarium Setelah Perlakuan.....101

Lampiran 2 Data Kadar MDA dan SOD Ovarium Setelah Perlakuan.....103

Lampiran 3 Perhitungan Manual Statistik Hasil Penelitian.....105

Lampiran 4 Perhitungan Statistik Hasil Penelitian Jumlah Folikel SPSS 107

Lampiran 5 Perhitungan Statistik Transformasi Data Hasil Penelitian Jumlah Folikel dengan SPSS 110

Lampiran 6 Perhitungan Statistik Hasil Penelitian Kadar SOD dengan SPSS ..113

Lampiran 7 Perhitungan Statistik Hasil Penelitian Kadar MDA dengan SPSS..116

Lampiran 8 Gambar Pengamatan Folikel Ovarium 119

Lampiran 9 Gambar Alat dan Bahan Penelitian 123

ABSTRAK

Mukholifah. 2015. **Pengaruh kombinasi ekstrak daun pegagan**(*Centella asiatica* (L) urban) **dan beluntas** (*Plucea indica.* (L) Urban) **terhadap jumlah folikel, kadar SOD dan MDA ovarium tikus putih** *(Rattus norvegicus*). Skripsi Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Dr.drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si; Pembimbing Agama: Mujahidin Ahmad, M.Sc.

Kata kunci: Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban, beluntas (*Plucea indica* (L) Urban, ovarium, SOD, MDA, tikus

Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban dan beluntas (*Plucea indica* (L) Urban merupakan bahan alam yang digunakan sebagai obat tradisional yang mengandung bahan aktif golongan triterpen, alkaloid, tanin dan flavonoid yang mampu mempengaruhi organ reproduksi betina.Pegagan dan beluntas diduga mempengaruhi kerja hormon reproduksi, sehingga mempengaruhi pematangan folikel ovarium. Kedua bahan tersebut juga memiliki kadar antioksidan yang tinggi. Diharapkan kedua bahan tersebut menghasilkan dosis dengan efek yang menguntungkan bagi sistem reproduksi.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan rancanagn acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan.Perlakuan digunakan ekstrak daun pegagan dan beluntas dengan P0 (kontrol), P1 (dosis 25 mg/Kg BB), P2 (dosis 50 mg/Kg BB),P3 (dosis 75 mg/Kg BB),P4 (dosis 125 mg/Kg BB), dan P5 (dosis 200 mg/Kg BB). Hewan yang digunakan adalah tikus betina fertil galur wistar berumur 2 bulan, dengan lama perlakuan 15 hari. Parameter dalam penelitian ini meliputi jumlah folikel primer, sekunder, tersier, de Graff, dan korpus luteum serta kadar SOD san MDA ovarium. Data dianalisis dengan Anova dan jika terdapat pengaruh maka dilanjut dengan uji BNT 5%.

Berdasarkan hasil analisis statistikmenunjukkan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban dan beluntas (*Plucea indica* (L) Urban berpengaruh terhadap jumlah folikel ovarium primer, dan tidak ada pengaruh nyata terhadap folikel sekunder, tersier, de graff dan korpus luteum. Sedangkan pegagan dan beluntas menunjukkan adanya pengaruh nyata pada kadar SOD dan MDA. Dosis yang menunjukkan kadar SOD ovarium tertinggi adalah dosis 200 mg/Kg BB, sedangkan MDA yang paling rendah adalah dosis 200 mg/Kg BB.

ABSTRACT

Mukholifah. 2015. **Combination effect of pegagan leafextract**(*Centella asiatica* (L) urban)**and beluntas**(*Plucea indica.* (L) Urban)**against the number of follicles, contents of SOD and MDA of white rat's ovaries***(Rattus norvegicus*).Thesis, Biology Department Science and Technology Faculty of the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: Dr.drh.Bayyinatul Muchtaromah, M.Si. Religion Supervisor: Mujahidin Ahmad, M.Sc.

Key word: Pegagan Leaf Extract (*Centella asiatica* (L) Urban, Beluntas Leaf Extract (*Plucea indica* (L) Urban, ovaries, SOD, MDAWhite Rat.

Pegagan (*Centellaasiatica* (L) Urban and beluntas(*Plucea indica* (L) Urban are natural matters used as traditional medicine containing active substance, such as triterpen, alkaloids, tannins and flavonoids that usable to affect female reproductive organs. Pegagan and beluntas expected to affect reproductive hormones working, so it can affect the maturation of ovarian follicles. They also have high antioxidant levels. So, both of themexpected to produce a dose with a beneficial effect for reproductive system.

This research is experimental research using random complete program (RCP) with 6 treatments and four replication. Treatment used pegagan leaf extract and beluntas with P0 (control), P1 (25 mg/KgBB dose), P2 (50 mg/KgBB dose), P3 (75 mg/KgBB dose), P4 (125 mg/KgBB dose) and P5 (200 mg/KgBB dose). Animal trial that used was female wistar strain rats fertile 2 months old, with 15 days treatment. The parameters in this study includes the total of the primary follicle, secondary, tertiary, de Graff, and the corpus luteum and also contents of SOD san MDA ovaries. Data was analyzed by Anova and if influence was found, it will be continued with BNT 5% test.

Based on the statistical analysis results that showedpegagan leaf extract (*Centella asiatica* (L) Urban and beluntasleaf extract (*Plucea indica* (L) Urban influenceto primary ovarian follicle total, and didn't influence reallyto secondary, tertiary follicles, de graff and the corpus luteum. Whereas pegagan and beluntas showed a real influence on the SOD and MDAcontents. Dose showed the highest SOD ovarian contents was 200 mg/Kg BB dose, while MDA was the lowest one with 200 mg/KgBB dose.

مختلص البحث

مخالفة. 2015. **أثر تألف تخريج ورقة (*Centella Asiatica* (L) Urban** pegagan) **و تخريج ورقة (*Plucea Indica* (L) Less** beluntas)**إلى جملة folikel و قدر SOD و MDA مبيض الفأرة البيضاء (*Ratus Norvegicus*) . البحث العملي من قسم البيولوجيا. كلية العلوم والتكنولوجيا .الجامعه الإسلاميه الحكوميةمولانامالك إبراهيممالانغ المشرفة: الدكتور. دكتورالحيوان بينة المخترمة الماجستير. المشرف الديني: مجاهدٍ أحمد الماجستير.**

مفتاح الكلمة: ورقة pegagan, ورقة beluntas, مبيض, MDA , SOD ,الفأرة

---

beluntas (***Plucea Indica*** **(L)** و pegagan(***Centella Asiatica*** **(L) Urban**) (**Less**هما من مادّة النبتية المستعملة لدواء التقليدي المحتوى ذوات متميزات منها triterpen و alkaloid و tanin و flavonoid التى تستطيع أن تأثّر أعضاء التناسل الإناث. ظُنّ pegagan وbeluntas يتأثّران أعمال هرمون التناسل حتى يتأثّر إلى نضوج folikel في المبيض هما يملكان كثيرا من قدر مانع التَأكْسُد. يُرجَى أن يحصلا مقدارا بتأثير منتفع لشبكة التناسل.

هذا البحث بحث تجريبيّ يستعمل خُطّة طائشٍ كاملة (**RAL**) بست خطوات و أربع تكريرات. الخطوة المستعملة هي تخريج ورقة pegagan و تخريج ورقة beluntas ب **P0** (مراقبة),**P1** (مقدار25 **mg/Kg** ثب), **P2** (مقدار 50**mg/Kg** ثب), **P3** (مقدار 75 **mg/Kg** ثب), **P4** (مقدار125**mg/Kg** ثب), **P5** (مقدار 200 **mg/Kg** ثب). والحيوان المستعمل للتجريب الفأرة البيضاء المرِعة من تجعيد wistar في عمر شهرين, بمدّة الخطوات خمسة عشر يوماً. يحتوى معلمات البحث من جملة folikel الأوّل والثاني والثالث و de Graff و luteum korpus و قدر SOD و MDA مبيض. يُحلّل البيانات بِ انوفا (Anova) و اذا يوجد الأثر فيُستمر باختبار BNT 5%.

بناءً على تحلّل الإحصائية يدلّ على أنّ تخريج ورقة pegagan و تخريج ورقة beluntas متأثّران تأثرا واضحاً إلى جملة folikel الأوّل والثاني والثالث و de Graff و luteum korpus. امّا pegagan و beluntas يدلّ على وجود الأثر الواضح إلى قدر SOD و MDA. و اكثر المقدار من SOD مبيض هو 200 **mg/Kg** ثب و اقلّ مقدار MDA هو 200 **mg/Kg** ثب.

ABSTRACT

Mukholifah. 2015. **Combination effect of pegagan leafextract**(*Centella asiatica* (L) urban)**and beluntas**(*Plucea indica.* (L) Urban)**against the number of follicles, contents of SOD and MDA of white rat's ovaries***(Rattus norvegicus*).Thesis, Biology Department Science and Technology Faculty of the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: Dr.drh.Bayyinatul Muchtaromah, M.Si. Religion Supervisor: Mujahidin Ahmad, M.Sc.

Key word: Pegagan Leaf Extract (*Centella asiatica* (L) Urban, Beluntas Leaf Extract (*Plucea indica* (L) Urban, ovaries, SOD, MDAWhite Rat.

Pegagan (*Centellaasiatica* (L) Urban and beluntas(*Plucea indica* (L) Urban are natural matters used as traditional medicine containing active substance, such as triterpen, alkaloids, tannins and flavonoids that usable to affect female reproductive organs. Pegagan and beluntas expected to affect reproductive hormones working, so it can affect the maturation of ovarian follicles. They also have high antioxidant levels. So, both of themexpected to produce a dose with a beneficial effect for reproductive system.

This research is experimental research using random complete program (RCP) with 6 treatments and four replication. Treatment used pegagan leaf extract and beluntas with P0 (control), P1 (25 mg/KgBB dose), P2 (50 mg/KgBB dose), P3 (75 mg/KgBB dose), P4 (125 mg/KgBB dose) and P5 (200 mg/KgBB dose). Animal trial that used was female wistar strain rats fertile 2 months old, with 15 days treatment. The parameters in this study includes the total of the primary follicle, secondary, tertiary, de Graff, and the corpus luteum and also contents of SOD san MDA ovaries. Data was analyzed by Anova and if influence was found, it will be continued with BNT 5% test.

Based on the statistical analysis results that showedpegagan leaf extract (*Centella asiatica* (L) Urban and beluntasleaf extract (*Plucea indica* (L) Urban influenceto primary ovarian follicle total, and didn't influence reallyto secondary, tertiary follicles, de graff and the corpus luteum. Whereas pegagan and beluntas showed a real influence on the SOD and MDAcontents. Dose showed the highest SOD ovarian contents was 200 mg/Kg BB dose, while MDA was the lowest one with 200 mg/KgBB dose.

مختلص البحث

مخالفة. 2015. **أثر تألف تخريج ورقة (*Centella Asiatica* (L) Urban)** pegagan **و تخريج ورقة (*Plucea Indica* (L) Less)**beluntas**إلى جملة folikel و قدر SOD و MDA مبيض الفأرة البيضاء(*Ratus Norvegicus*) . البحث العملي من قسم البيولوجيا. كلية العلوم والتكنولوجيا .الجامعه الإسلاميه الحكوميةمولانامالك إبراهيممالانغ المشرفة: الدكتور. دكتورالحيوان بينة المخترمة الماجستير. المشرف الديني: مجاهدٍ أحمد الماجستير.**

مفتاح الكلمة: ورقة pegagan, ورقة beluntas, مبيض, SOD , MDA ,الفأرة

---

beluntas (***Plucea Indica*** **(L) Less)** و pegagan(***Centella Asiatica*** **(L) Urban)**هما من مادّة النبتية المستعملة لدواء التقليدي المحتوى ذوات متميزات منها triterpen و alkaloid و tanin و flavonoidالتى تستطيع أن تأثّر أعضاء التناسل الإناث. ظُنّ pegagan وbeluntas يتأثّران أعمال هرمون التناسل حتى يتأثّر إلى نضوج folikel في المبيض هما يملكان كثيرا من قدر مانع التَأكْسُد. يُرجَى أن يحصلا مقدارا بتأثير منتفع لشبكة التناسل.

هذا البحث بحث تجريبيّ يستعمل خُطّة طائشٍ كاملة (**RAL**) بست خطوات و أربع تكريرات. الخطوة المستعملة هي تخريج ورقة pegagan و تخريج ورقةbeluntas ب **P0** (مراقبة),**P1** (مقدار25 **mg**/**Kg** ثب), **P2** (مقدار 50**mg**/**Kg** ثب), **P3** (مقدار 75 **mg**/**Kg** ثب), **P4** (مقدار125**mg**/**Kg** ثب), **P5** (مقدار 200 **mg**/**Kg** ثب). والحيوان المستعمل للتجريب الفأرة البيضاء المرِعة من تجعيد wistar في عمر شهرين, بمدّة الخطوات خمسة عشر يوماً. يحتوى معلمات البحث من جملة folikel الأوّل والثاني والثالث و de Graff و luteum korpus و قدر SOD و MDA مبيض. يُحلّل البيانات بِ انوفا (Anova) و اذا يوجد الأثر فيُستمر باختبار BNT 5%.

بناءً على تحلّل الإحصائية يدلّ على أنّ تخريج ورقة pegagan و تخريج ورقة beluntas متأثّران تأثرا واضحاً إلى جملة folikel الأوّل والثاني والثالث و de Graff و luteum korpus. امّا pegagan و beluntas يدلّ على وجود الأثر الواضح إلى قدر SOD و MDA. و اكثر المقدار من SOD مبيض هو 200 **mg**/**Kg** ثب و اقلّ مقدار MDA هو 200 **mg**/**Kg** ثب.

ABSTRAK

Mukholifah. 2015. **Pengaruh kombinasi ekstrak daun pegagan**(*Centella asiatica* (L) urban) **dan beluntas** (*Plucea indica.* (L) Urban) **terhadap jumlah folikel, kadar SOD dan MDA ovarium tikus putih** *(Rattus norvegicus*). Skripsi Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Dr.drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si; Pembimbing Agama: Mujahidin Ahmad, M.Sc.

Kata kunci: Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban, beluntas (*Plucea indica* (L) Urban, ovarium, SOD, MDA, tikus

Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban dan beluntas (*Plucea indica* (L) Urban merupakan bahan alam yang digunakan sebagai obat tradisional yang mengandung bahan aktif golongan triterpen, alkaloid, tanin dan flavonoid yang mampu mempengaruhi organ reproduksi betina.Pegagan dan beluntas diduga mempengaruhi kerja hormon reproduksi, sehingga mempengaruhi pematangan folikel ovarium. Kedua bahan tersebut juga memiliki kadar antioksidan yang tinggi. Diharapkan kedua bahan tersebut menghasilkan dosis dengan efek yang menguntungkan bagi sistem reproduksi.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan rancanagn acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan.Perlakuan digunakan ekstrak daun pegagan dan beluntas dengan P0 (kontrol), P1 (dosis 25 mg/Kg BB), P2 (dosis 50 mg/Kg BB),P3 (dosis 75 mg/Kg BB),P4 (dosis 125 mg/Kg BB), dan P5 (dosis 200 mg/Kg BB). Hewan yang digunakan adalah tikus betina fertil galur wistar berumur 2 bulan, dengan lama perlakuan 15 hari. Parameter dalam penelitian ini meliputi jumlah folikel primer, sekunder, tersier, de Graff, dan korpus luteum serta kadar SOD san MDA ovarium. Data dianalisis dengan Anova dan jika terdapat pengaruh maka dilanjut dengan uji BNT 5%.

Berdasarkan hasil analisis statistikmenunjukkan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban dan beluntas (*Plucea indica* (L) Urban berpengaruh terhadap jumlah folikel ovarium primer, dan tidak ada pengaruh nyata terhadap folikel sekunder, tersier, de graff dan korpus luteum. Sedangkan pegagan dan beluntas menunjukkan adanya pengaruh nyata pada kadar SOD dan MDA. Dosis yang menunjukkan kadar SOD ovarium tertinggi adalah dosis 200 mg/Kg BB, sedangkan MDA yang paling rendah adalah dosis 200 mg/Kg BB.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sistem reproduksi merupakan proses fisiologis yang terjadi pada seluruh makhluk hidup guna mempertahankan keturunan dan kelangsungan hidup. Dalam peranannya sendiri yang berperan penting adalah organ reproduksi jantan maupun betina yang bila terjadi pembuahan akan menghasilkan keturunan. Sistem reproduksi ini juga karena dipengaruhi oleh struktur organ yang berperan didalamnya, terutama organ reproduksi betina yang merupakan tempat terjadinya pembuahan sampai pertumbuhan janin. Salah satu organ genitalia betina yang merupakan alat kelamin utama adalah gonad atau ovarium yang berfungsi menghasilkan telur.

Ovarium adalah organ yang menghasilkan folikel, dan akan berkembang menjadi sel telur matang yang akan dibuahi, selain itu juga merupakan tempat produksi hormon yang mempengaruhi siklus haid dan sifat-sifat kewanitaan. Menurut Hafez *et al*,. (2000), beberapa hormon yang termasuk dalam hormon reproduksi adalah estrogen, progesteron dan testosteron. Perkembangan organ reproduksi tergantung dari hadirnya hormon-hormon reproduksi tersebut. Estrogen adalah salah satu hormon reproduksi yang dihasilkan oleh sel-sel granulosa folikel de Graaf dan berfungsi untuk merangsang pertumbuhan dan perkembangan organ reproduksi, perkembangan sifat seksual sekunder, perilaku persiapan kawin (siklus estrus), persiapan uterus untuk implantasi (kehamilan) dan perkembangan kelenjar mamae.

Ovarium termasuk organ reproduksi yang sangat vital dalam proses reproduksi, namun organ ini rentan terhadap masalah reproduksi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Marto (2003), bahwa permasalahan reproduksi wanita yang sering dieluhkan adalah seperti kontrasepsi, infertilitas. Menurut Campbell (2010), kontrasepsi merupakan pencegahan kehamilan secara sengaja, dapat tercapai melalui sejumlah cara. Permasalahan kontrasepsi dimungkinkan karena penggunaan metode yang kurang aman dan sesuai. Sedangkan Penyebab infertilitas bervariasi, dengan kemungkinan cacat reproduktif yang hampir sama besar pada laki-laki dan perempuan. Infertilitas didefinisikan sebagai hilangnya kemampuan untuk hamil dan melahirkan seseorang anak. Keadaan ini tidak sama dengan sterilitas, yang merupakan ketidakmampuan absolut dan irreversibel untuk hamil. Secara klinis, suatu pasangan diduga mengalami infertilitas jika tidak terjadi kehamilan setelah coitus yang sering dan tidak menggunakan kontrasepsi selama 12 bulan atau infertil (Heffner, 2008).

Saat ini program KB telah banyak dibicarakan oleh pemerintah dengan semboyan 2 anak cukup, oleh karena itu sebuah keluarga harus dapat membuat perencanaan keluarga. Perencanaan keluarga dapat dilakukan dengan pemilihan kontrasepsi yang rasional, menurut BPPPK ada beberapa metode yang dapat digunakan sebagai alat kontrasepsi, salah satunya adalah metode hormonal yang umum digunakan adalah Pil KB, dan suntik KB. Keterbatasan kontrasepsi pada wanita umumnya adalah pemakaian kontrasepsi hormonal atau sering disebut pil. Metode tersebut banyak memilki efek samping, diantaranya adalah obesitas, jerawat,

sakit kepala, keputihan dan diare serta menurut beberapa penelitian dalam jangka panjang digunakan dapat menyebabkan tumor pada payudara (Hendri, 2007). Sedangkan dari sekian banyak kasus infertilitas hanya 50% saja yang berhasil ditangani baik secara program bayi tabung dan lain sebagainya (Sarwono, 1999).

Salah satu anjuran yang digunakan turun menurun secara tradisional adalah menjaga kesehatan dengan penggunaan obat herbal. Pemanfaatan tanaman herbal dalam masyarakat digunakan baik sebagai tindakan pencegahan atau pun pengobatan, tidak terkecuali masalah reproduksi. Sebagaimana Allah ﷻ berfirman dalam surat Asy-syu'ara ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا۟ إِلَى ٱلْأَرْضِ كَمْ أَنۢبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧

"Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?"

Berdasarkan ayat Al-Qur'an diatas menjelaskan bahwa Allah menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang baik, karena setiap yang diciptakan Allah ﷻ tidak ada yang sia-sia, terutama bagi kehidupan manusia. Allah pula yang menumbuhkan berbagai tanaman yang bermanfaat bagi manusia, khususnya sebagai makanan dan obat-obatan. Maha Besar Allah dengan segala ciptaan-Nya.

Beberapa tumbuhan yang diduga berpotensi terhadap status reproduksi adalah pegagan dan beluntas (Besung, 2009). Bahan-bahan aktif yang terkandung dalam pegagan disinyalir mampu mempengaruhi metabolisme pada organ-organ yang terkait dengan reproduksi betina (Fitriyah, 2009). Selain itu penelitian dari Setiawan

(1999), menyatakan bahwa daun beluntas diberikan secara oral, mempunyai pengaruh antifertilitas pada mencit betina.

Beberapa bahan aktif yang terkandung di dalam pegagan antara lain adalah triterpenoid saponin yang unsur utamanya terdiri dari asiatikosida dan madekassosida, genin triterpen, minyak esensial,flavonoid, fitosterol, gula dan bahan aktif lain seperti tannin, asam amino, asam lemak, alkaloid dan garam-garam mineral (Gupta dan Kumar, 2006). Bahan aktif triterpenoid terutama asiatikosida dan madekassosida telah terbukti mampu memperbaiki kerusakan sel dengan merangsang pembentukan kolagen lebih cepat. Bahan aktif tersebut juga diduga mampu memperbaiki kerusakan sel-sel granulosa pada folikel ovarium. Sel-sel granulosa penting untuk menjaga kelangsungan hidup folikel, karena reseptor gonadotropin hanya terdapat pada sel-sel granulosa (Suheimi, 2007). Sedangkan senyawa aktif beluntas berupa fraksi tannin, alkaloid dan flavonoid dapat menurunkan jumlah sel spermatogenik, kadar hormon testosteron (Susetyarini, 2008).

Penelitian tentang manfaat daun pegagan dan beluntas pada bidang reproduksi masih belum banyak dilakukan. Dalam penelitian sebelumnya bahan aktif pegagan menunjukkan adanya pengaruh ekstrak pegagan terhadap perkembangan folikel, jika ditinjau dari segi pengaruh dosis dapat dilihat pada penelitian Fitriyah (2009), menunjukkan bahwa pemberian ekstrak pegagan selama 30 hari dengan dosis 75 mg/kg BB meningkatkan jumlah folikel sedangkan dosis 100 mg/kg BB dan 125 mg/kg BB menurunkan jumlah folikel pada ovarium mencit (*Mus musculus*). Sedangkan penelitian Kristanti (2010), diketahui bahwa pada perkembangan folikel

pada dosis 125 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB mengalami penurunan dan semakin turun pada dosis yang paling tinggi yaitu dosis 275 mg/Kg BB jika dibandingkan dengan kontrol.

Kandungan metabolit sekunder pada beluntas sudah dicobakan pada tikus jantan, antara lain tanin ternyata dapat menyebabkan sperma menggumpal, alkaloid menekan sekresi hormone reproduksi yaitu testosterone sehingga proses spermatogenesis terganggu sedangkan flavonoid menghambat enzim aromatase yaitu enzim yang mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen yang akan meningkatkan hormone testosteron (Winarno, 1997). Khasiat beluntas sebagai obat keputihan dapat mendukung penggunaan ramuan tradisional sebagai obat kesuburan, tetapi khasiat beluntas yang dapat menaikkan kontraksi uterus justru dapat menyebabkan keguguran (Sa'roni, 2012). Pemberian ekstrak daun beluntas dari penelitian Rukmana (2010), menunjukkan adanya pengaruh penurunan jumlah sel spermatogonium, sel spermatid, dan sel leydig. Dosis ekstrak daun beluntas yang paling baik dalam menurunkan jumlah sel spermatogonium, sel sprematosit primer, sel spermatid dan sel leydig adalah 187,5 mg/kg BB.

Pengaruh ekstrak pegagan dan beluntas juga diharapakan dapat menekan antioksidan, karena tingginya jumlah folikel pada pemberian jumlah ekstrak daun pegagan disinyalir dapat meningkatkan kadar antioksidan berlebih dalam ovarium yang berubah menjadi prooksidan. Menurut Sikka *et al*., (1995), kondisi yang berhubungan dengan stres meliputi status penyakit kronis, penuaan, terekspos toksin. Saleh dan Agarwal (2002), infeksi, inflamasi, serta kasus infertilitas yang dapat

meningkatkan proses oksidasi dan menyebabkan kerusakan sel. Hal ini sesuai dengan penelitian pegagan yang dilakukan Adwiyah (2013), kadar SOD tertinggi diperoleh pada penggunaan pegagan pada mencit (*Mus musculus*) pada dosis 125 mg/kg BB mengalami peningkatan sebesar 30,87% dari perlakuan kontrol, yakni sebesar 22,60%, tapi penggunaan dosis diatas 200 mg/kg bb menurunkan kadar SOD.

Menurut Haliwell (2006), kadar senyawa antioksidan tertentu pada dosis yang berlebihan dapat berubah menjadi prooksidan, sehingga dapat memperparah kerusakan oksidatif. Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid sehingga meningkatkan kadar malondialdehid (MDA) dan menurunkan aktivitas superoksida dismutase (SOD) (Caramori and Papi, 2004).

Tanaman pegagan dan beluntas sebelumnya juga sudah dibuat ramuan jamu tradisonal untuk kesuburan di Sumatera Barat dengan cara direbus biasa (Sa'roni, 2012). Bahan aktif steroid dan triterpenoid diduga sebagai bahan aktif yang bekerja sebagai faktor terhadap status reproduksi. Hal tersebut dikarenakan kedua bahan aktif tersebut diduga dalam dosis tertentu mampu mengakibatkan gangguan pada jalur hipotalamus hipofise yang selanjutnya mengakibatkan gangguan sekresi GnRH yang kemudian akan berpengaruh terhadap pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel (Limbong, 2007). Tapi penelitian tentang status reproduksi pada betina belum banyak dilakukan dan sampai saat ini mekanisme fisiologis pegagan dan beluntas pada hewan betina juga masih belum banyak diketahui. Demikian pula pada potensi kombinasi pegagan dan beluntas sebagai bahan penyubur atau sebagai kontrasepsi

oral pada betina masih belum dilakukan, karena satu tanaman memiliki lebih dari satu efek farmakologi karena adanya efek komplementer atau sinergis dalam komponen bioaktif tanaman.

Berdasarkan pemaparan sebelumnya maka perlu dilakukan penelitian mengenai potensi kombinasi pegagan dan beluntas terhadap jumlah folikel, kadar SOD dan MDA ovarium tikus putih (*Rattus norwegicus)* betina, karena salah satu tingkat kesuburan seorang wanita dapat dilihat dari ada tidaknya produksi sel telur dalam ovarium, serta sebagaimana beberapa bahan aktif yang terkandung dalam pegagan dan beluntas diduga berpotensi untuk mengetahui status reproduksi pada betina dan bermanfaat dalam pengembangan ilmu reproduksi. Sehingga dalam penelitian ini digunakan pemilihan dosis rendah sampai tinggi agar dapat digunakan sebagai obat kesuburan atau kontrasepsi oral bila sesuai dosis yang sesuai.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah kombinasi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban) berpengaruh terhadap jumlah folikel ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus)* ?
2. Apakah kombinasi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban) berpengaruh terhadap kadar SOD dan MDA ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus)* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengetahui kombinasi ekstrak daun pegagan dan pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban) terhadap jumlah folikel ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*).
2. Mengetahui kombinasi ekstrak daun pegagan dan pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban) terhadap kadar SOD dan MDA ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.4 Hipotesis

Hipotesa dari penelitian ini adalah adanya pengaruh signifikan kombinasi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban) terhadap jumlah folikel ovarium dan kadar SOD dan MDA ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*).

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberi informasi kepada masyarakat luas dan menambah pengetahuan tentang pegagan dan beluntas yang bermanfaat dalam pengembangan ilmu reproduksi yang kemudian dapat digunakan sebagai obat kontrasepsi maupun penyubur. Serta dan memberikan informasi tentang khasanah keilmuan pada bidang biologi reproduksi serta menjadi landasan bagi penelitian selanjutnya.

1.6 Batasan Penelitian

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Ekstrak etanol 75% yang digunakan berasal dari bagian daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan daun beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban) yang dibuat dalam 5 dosis perlakuan dan 1 kontrol.
2. Parameter dalam penelitian ini meliputi jumlah folikel primer, skender, tersier, de Graff dan korpus luteum tikus putih (*Rattus norvegicus*) dan kadar SOD dan MDA dari ovarium betina hasil dari pemberian perlakuan.
3. Hewan coba yang dipakai adalah tikus putih (*Rattus norvegicus)* betina, umur 2 bulan dengan berat rata-rata 100 – 150 gram.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban)

2.1.1 Morfologi Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban)

Pada dunia tumbuhan, terdapat berbagai macam tumbuhan yang berbeda-beda, begitu juga dengan manfaatnya. Hal ini sesuai dengan firman Allah ﷻ dalam surat Thaha ayat 53 sebagai berikut:

ٱلَّذِى جَعَلَ لَكُمُ ٱلْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنزَلَ مِنَ ٱلسَّمَآءِ مَآءً فَأَخْرَجْنَا بِهِۦٓ أَزْوَٰجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّىٰ ﴿٥٣﴾

"Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam" (Q.S. Thaha/ 20: 53).

Ayat di atas tafsir Al-Maraghi (1987), menafsirkan bahwa Dia yang menurunkan air hujan dari langit, lalu dengan air hujan itu Dia mengeluarkan berbagai jenis tumbuh-tumbuhan, seperti palawija dan buah-buahan, baik yang masam maupun yang manis. Juga mengeluarkannya dengan berbagai manfaat, warna, aroma dan bentuk, sebagiannya cocok untuk manusia dan sebagiannya cocok untuk hewan. Disini terdapat penjelasan tentang nikmat-nikmat Allah yang dilimpahkan kepada makhluk-Nya melalui hujan yang melahirkan berbagai manfaat itu.

Salah satu tumbuhan yang bermanfaat bagi manusia maupun hewan adalah pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) merupakan tumbuhan terna tanpa batang, tahunan dengan pertumbuhan yang menjalar (Heyne, 1987). Pegagan tumbuh merayap menutupi tanah, tidak memiliki batang, tinggi tanaman antara 10 – 50 cm. Pegagan memiliki daun satu helaian yang tersusun dalam roset akar dan terdiri dari 2 – 10 helai daun. Daun berwarna hijau dan berbentuk seperti kipas, buah berbentuk pinggang atau ginjal. Pegagan juga memiliki daun yang permukaan dan punggungnya licin, tepinya agak melengkung ke atas, bergerigi, dan kadang-kadang berambut, tulangnya berpusat di pangkal dan tersebar ke ujung serta daunnya memiliki diameter 1-7 cm (Winarto, 2003).

Pegagan memiliki beberapa organ tumbuhan yang meliputi : akar, stolon, daun, bunga dan buah. Akar dari tumbuhan pegagan merupakan akar vertikal (Gupta dan Kumar, 2006). Pegagan memiliki akar rimpang yang pendek serta mempunyai geragih (Savitri, 2006). Menurut Winarto (2003), akar keluar dari buku dan berupa akar tunggang berwarna putih. Stolon tumbuh dari ssstem perakaran, memilki ukuran yang panjang dan tumbuh menjalar . Pada setiap buku dari stolon akan tumbuh tunas yang akan menjadi cikal bakal tumbuhan pegagan baru.

Tunas pegagan akan tumbuh menjadi beberapa daun tunggal yang tersusun dalam roset, daun berupa daun tunggal yang tumbuh dari setiap buku pada stolon, permukaan daun kadang berambut, kaku atau kasap dengan pertulangan daun menjari (Lasmadiwati, 2004). Menurut Winarto (2003), Pegagan memiliki tangkai daun berbentuk seperti pelepah, agak panjang dan 5 - 15 cm. Pada tangkai daun pegagan

dipangkalnya terdapat daun sisik yang sangat pendek, licin, tidak berbulu, berpadu dengan tangkai daun. Pegagan memiliki bunga putih atau merah muda yang tersusun dalam karangan yang berbentuk payung. Bunga berukuran kecil, tidak bertangkai dan berwarna kemerah-merahan. Bunga-bunga ini tumbuh dalam tirai bunga yang sederhana dan terdiri dari 3-6 bunga (Satya dan Ganga, 2006). Bunga selanjutnya akan menjadi buah pegagan berbentuk lonjong atau pipih, berbau harum dan rasanya pahit, panjang buah 2 – 2,5 mm. Buah pegagan berdinding agak tebal, kulitnya keras, berlekuk dua, berusuk jelas, dan berwarna kuning (Winarto, 2003)

Gambar 2.1. Gambar Tumbuhan Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) (Winarto, 2003).

2.1.2 Klasifikasi Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban)

Berdasarkan deskripsi yang telah diuraikan, klasifikasi dari pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) adalah sebagai berikut (Lasmadiwati, 2004) :

Kingdom Plantae

Divisi Spermatophyta

Sub-divisi Angiospermae

Kelas Dikotiledonae

Ordo Umbellales

Famili Umbelliferae

Genus Centella

Spesies *Centella asiatica* (L.) Urban

Salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai obat tradisional tersebut adalah pegagan. Nama lokal pegagan yaitu: Daun kaki kuda atau antanan (Indonesia), Pegaga (Aceh), pengaga, daun pengaga, kaki kuda, rumput kaki kuda (Melayu); pegago, pugago (Minangkabau), antanan bener, antanan gede, antanan rambat, ki antanan, cowet gompeng (Sunda), gagan-gagan, ganggagan, kerok batok, panegowang, panigowang, pacul gowang, rendeng, calingan rambat (Jawa), gan-ganan, kos-tekosan (Madura), pengaga, piduk, tapak kuda, tapal kuda (Bali), pegaga, wisu-wisu (Makasar), cipubalawo, daun tungke-tungke (Bugis), kuku kuda (Medano), sarowati, kori-kori (Halmahera), kolitidi menora (Ternate), dogauke, gogauke, dan sandanan (Papua) (Achmad, S.A, 2008). Sedangkan nama asing anatara lain: gota kola (Amerika); Indian pennywort, thick leaved pennywort (Inggris); bevilaque, cotyole asiatique, hydrocote d'Asie (Prancis); wasselnabel (Jerman); jharniba, artaniyaehindi (Arab) (Winarto, 2003).

2.1.3 Kandungan Bahan Aktif Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban)

Segala sesuatu yang ada dimuka bumi ini sebenarnya memiliki manfaat yang sangat beragam yang dapat digunakan untuk kemaslahatan umat manusia. Ciptaan Allah ﷻ yang memilki manfaat besar diantaranya adalah tumbuh-tumbuhan. Salah satu yang diketahui adalah pemanfaatan tumbuhan sebagai obat-obatan yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Sebagaimana firman Allah yakni:

أَوَلَمْ يَرَوْا۟ إِلَى ٱلْأَرْضِ كَمْ أَنۢبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧ إِنَّ فِى ذَٰلِكَ لَءَايَةً ۖ وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُم مُّؤْمِنِينَ ۝٨

"Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?.Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. Dan kebanyakan mereka tidak beriman".(Surat Asy-Syu'araa: 26: 7-8).

Ayat di atas menjelaskan bahwasannya Allah l telah menciptakan berbagai macam tumbuhan yang baik, yakni tumbuhan yang dapat bermanfaat bagi kemaslahatan umat manusia. Menurut tafsir Jalalain (2010), (dan apakah mereka tidak memperhatikan) maksudnya tidak memikirkan tentang (bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu) alangkah banyaknya (dari bermacam-macam tumbuh-tumbuhan yang baik) jenisnya?

Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak etanol pegagan menunjukkan adanya senyawa alkaloid, triterpenoid dan saponin. Alkaloid hydrocotylin ($C_{22}H_{35}NO_8$) diisolasi dari pegagan kering. Saponin ditemukan di seluruh bagian tanaman yaitu

centellasaponin B, C, dan D (Matsuda, *et al*.2001). Senyawa triterpenoid pada pegagan yaitu asiatikosida, centellosida, madekasosida dan asam asiatik (Randriamampionona *et al*., 2007). Flavonoid pada daun pegagan merupakan senyawa minor seperti 3-glikosilkuersetin, 3-glukosilkaempferol dan 7-glikosilkaempferol (Jamil, Qudsia & Mehboobus, 2007).

Tabel 2.1 Komposisi Senyawa Triterpenoid pada Pegagan dengan Pelarut Etanol.

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

(James and Dubery (2009); Mitra, Orbell and Muralitharan. 2007).

Kandungan ekstrak pegagan adalah triterpenoid dengan komposisi utama asiatikosida, asam asiatat, dan asam madekasad. Komponen relatif triterpenoid total berfariasi sesuai dengan tempat tumbuh. Rendemen triterpenoid total pada tanaman pegagan dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain umur tanaman, kesuburan tanah, ketinggian tempat tumbuh dari permukaan laut, tingkat naungan atau sumber cahaya matahari (Mora, 2012).

Kandungan triterpenoid saponin dalam pegagan berkisar 1-8%. Unsur yang utama dalam triterpenoid saponin adalah asiatikosida dan madekassosida (Gupta dan Kumar, 2006). Triterpenoid saponin pada pegagan berfungsi untuk meningkatkan aktivasi makrofag. Bahan triterpenoid saponin mampu memacu produksi kolagen I, yaitu protein pemacu proses penyembuhan luka (Winarto, 2003). Dalam triterpenoid saponin ini juga terkandung beberapa unsur lain seperti : centellosida, brahmosida, brahminosida serta B, C dan D centellasaonin yang saling bekerjasama dalam proses sintesa kolagen, akan tetapi unsur-unsur tersebut dalam jumlah yang sangat sedikit. Menurut literatur lain menambahkan, asiatikosida mampu bekerja dalam detoksifikasi pada hati dan merupakan marker dalam penentuan standar baku pada pegagan. Madekossida juga berperan penting karena mampu memperbaiki kerusakan sel dengan sintesis kolagen. Sedangkan asiatikosida mampu bekerja sebagai detoksifikasi pada hati dan merupakan marker dalam penentuan standar bahan baku pada pegagan (Selfitri, 2008).

Madekassosida juga memiliki peran penting karena mampu memperbaiki keruskan sel dengan merangsang sintesis kolagen (Bonte *et al.*, 1995). Kolagen sangat penting sebagai bahan dasar pembentuk serat fibroblas. Sebagaimana diketahui bahwa korteks ovarium (tempat perkembangan folikel) tersusun atas serat-serat fibroblast (Selfitri, 2008). Dalam kajian fertilitas (terutama pada betina) menurut Fitriyah (2009) bahan aktif pegagan dapat mempengaruhi perkembangan folikel ovarium mencit betina (*Mus muculus*) dengan meningkatkan dan menurunkan jumlah folikel primer, tertier, dan de graaf.

Flavonoid adalah suatu kelompok yang termasuk ke dalam senyawa fenol yang terbanyak di alam, senyawa-senyawa flavonoid ini bertanggung jawab terhadap zat berwarna ungu, merah, biru dan sebagian zat berwarna kuning dalam tumbuhan. Flavonoid dalam tumbuhan mempunyai empat fungsi: 1) sebagai pigmen warna, 2) fungsi patologi, 3) aktivasi farmakologi, 4) flavonoid dalam makanan (Handayani, 2005).

Fitosterol merupakan turunan senyawa sterol yang dahulu hanya ditemukan pada hewan dalam bentuk kolesterol sebagai bahan baku pembentuk hormon seks. Senyawa-senyawa fitosterol yang terdapat pada tumbuhan antara lain: sitosterol, stimagsterol, dan kampesterol. Ketiga senyawa fitosterol tersebut terbukti mampu bekerja baik untuk mengurangi kolesterol total dan LDL kolesterol dalam darah (Tisnajaya, 2005).

2.2 Deskripsi Beluntas (*Plucea indica* (L) Urban)

2.2.1 Morfologi Beluntas (*Plucea indica* (L) Urban)

Beluntas merupakan tanaman semak, tumbuh tegak, tingginya dapat mencapai 2 meter atau lebih. Percabangan banyak, rusuknya halus, dan berbulu lembut. Tanaman beluntas berbunga sepanjang tahun (Pujowati, 2006). Tanaman ini memiliki habitat perdu dengan tinggi 1-1,5 m. Batangnya berkayu, bulat, tegak, bercabang, bila masih muda berwarna ungu setelah tua putih kotor. Daunnya tunggal, berbentuk bulat telur, tepi rata, ujung runcing, pangkal tumpul, berbulu halus, panjang 3,8-6,4 cm, lebar 2-4 cm, pertulangan menyirip, warna hijau muda hingga hijau. Bunganya majemuk, mahkota lepas, putik bentuk jarum, panjang ±6 mm, berwarna hitam kecoklatan, kepala sari berwarna ungu, memiliki dua kepala putik yang berwarna putih atau putih kekuningan. Akar beluntas merupakan akar tunggang dan bercabang (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

Menurut Pujowati (2008) bunga beluntas majemuk, dan berbentuk malai rata. Bunga keluar dari ujung cabang ke ketiak daun. Cabang bunga sangat banyak sehingga membentuk rempuyung cukup besar antara 2,5-12,5 cm. Bunga berbentuk bonggol, bergagang atau duduk. Bentuknya seperti silinder sempit dengan panjang 5-6 mm. Panjang daun pembalut sampai 4 mm. Daun pelindung bunga tersusun dari 6-7 helai. Daun pelindung yang terletak di dalam berbentuk sudut (lanset) dan di luar berbentuk bulat telur. Daun pelindung berbulu lembut, berwarna ungu dan pangkalnya ungu muda. Kepala sari menjulur dan berwarna ungu. Tangkai putik pada bunga betina lebih panjang. Buah beluntas longkah berbentuk seperti gasing,

warnanya coklat dengan sudut-sudut putih, dan lokos (gundul atau licin) panjang buah 1 mm.

Gambar 2.2. Gambar Tumbuhan Beluntas (*Plucea indica* (L) Urban) (Sulistiyaningsih, 2009).

2.2.2 Klasifikasi Beluntas (*Plucea indica* (L) Urban)

Menurut Van Steenis (1975), klasifikasi beluntas dalam sistematika tumbuhan sebagai berikut:

Divisi Spermatophyta

Sub Divisi Magnoliophyta

Kelas Dicotyledonae

Bangsa Asterales

Suku Asteraceae

Marga Pluchea

Spesies *Pluchea indica* Less.

Di berbagai daerah di Indonesia beluntas dikenal dengan nama beluntas (Sumatra), baruntas (Sunda), luntas (Jawa Tengah), baluntas (Madura), lamutasa (Makasar). Sedangkan di luar Indonesia beluntas dikenal dengan nama lenabou (Timor), beluntas (Malaysia), beluntas (Singapura), dan khlu (Thailand) (Heyne, 1987).

2.2.3 Kandungan Bahan Aktif Beluntas (*Plucea indica* (L) Urban)

Senyawa bioaktif yang terdapat pada daun beluntas (*Pluchea indica* Less) adalah alkaloid, flavonoid, tanin, minyak atsiri, asam chlorogenik, natrium, kalium, aluminium, kalsium, magnesium dan fosfor. Sedangkan akarnya mengandung flavonoid dan tannin (Susetyarini, 2007). Senyawa-senyawa ini merupakan senyawa metabolit sekunder.

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

Tabel 2.2 Kadar Uji Fitokimia pada Beluntas

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

Alkaloid yang diperoleh dari tanaman dapat mempengaruhi fisiologi dan metabolisme dari manusia dan hewan (De Padua, *et al*, 1999). Penelitian Noridayu *et al.,* (2011), menunjukkan bahwa beluntas mempunyai potensi sebagai antioksidan dan antiacetycholinesterase inhibitor secara *in vitro*.

Pada bidang farmakologi flavonoid ditemukan dalam bentuk cincin heterosiklik, dan bersifat aktif biologis. Flavonoid dapat menghambat enzim aromatase yang berfungsi mengkatalis konversi androgen manjadi estrogen. Tingginya konsentrasi estrogen akan menyebabkan umpan balik negative ke hipofisis sehingga menghambat pelepasan FSH dan LH, menghambat proses mitosis dan proses folikulogeneis dan dapat memengaruhi proses ovulasi (Suhaemi, 1997).

Berbagai kandungan metabolit sekunder pada beluntas sudah dicobakan pada tikus jantan, antara lain Tanin ternyata dapat menyebabkan sperma menggumpal, alkaloid menekan sekresi hormone reproduksi yaitu testosterone sehingga proses spermatogenesis terganggu sedangkan flavonoid menghambat enzim aromatase yaitu enzim yang mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen yang akan meningkatkan hormone testosterone (Winarno, 1997).

Minyak atsiri adalah segala sesuatu yang terkait dengan bau harum yang berasal dari tumbuhan. Minyak atsiri dari satu tumbuhan dengan tumbuhan yang lain berbeda. Kebanyakan minyak atsiri memiliki komponen kimia dan komposisi yang berbeda.Komposisi atau kandungan komponen kimia tersebut sangat penting dalam menentukan aroma dan kegunaannya. Sifat fisik terpenting minyak atsiri adalah sangat mudah menguap pada suhu kamar. Sehingga sangat berpengaruh dalam

menentukan metode analisis yang akan digunakan dalam penentuan komponen kimia dan komposisinya (Agusta, 2000). Golongan terpen dan minyak atsiri bekerja tidak pada proses spermatogenesis akan tetapi pada proses transportasi. Minyak atsiri dapat menggumpalkan sperma sehingga menurunkan motilitas dan daya hidup sperma, akibatnya sperma tidak dapat mencapai sel telur dan pembuahan dapat dicegah (Winarno, 1997).

Biren (2007), menyatakan bahwa aktifitas anti inflamasi daun beluntas diperankan oleh alkaloid, flavonoid, xantone dan sterol yang terkandung di dalamnya. Khasiat tumbuhan beluntas lainnya adalah daun berbau khas aromatis dan rasanya getir. Berkhasiat untuk meningkatkan nafsu makan, membantu pencernaan, peluruh keringat, pereda demam dan penyegar. Akar beluntas berkhasiat sebagai peluruh keringat dan penyejuk. Kandungan kimia, daun beluntas mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, minyak atsiri, asam chlorogenik, natrium, kalium, aluminium, kalsium, magnesium dan fosfor. Sedangkan akarnya mengandung flavonoid dan tanin. (Susetyarini, 2007).

Pemanfaatan tanaman sebagai tanaman obat herbal karena kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada suatu tanaman tersebut. Salah satu ayat al-Qur’an yang mengarah pada kandungan tumbuhan yang bermanfaat, Sebagaimana yang difirmankan Allah dalam surat Al-An’aam ayat 99:

وَهُوَ ٱلَّذِىٓ أَنزَلَ مِنَ ٱلسَّمَآءِ مَآءً فَأَخۡرَجۡنَا بِهِۦ نَبَاتَ كُلِّ شَىۡءٖ فَأَخۡرَجۡنَا مِنۡهُ خَضِرٗا نُّخۡرِجُ مِنۡهُ حَبّٗا مُّتَرَاكِبٗا وَمِنَ ٱلنَّخۡلِ مِن طَلۡعِهَا قِنۡوَانٞ دَانِيَةٞ وَجَنَّٰتٖ مِّنۡ أَعۡنَابٖ وَٱلزَّيۡتُونَ وَٱلرُّمَّانَ مُشۡتَبِهٗا وَغَيۡرَ مُتَشَٰبِهٍۗ ٱنظُرُوٓاْ إِلَىٰ ثَمَرِهِۦٓ إِذَآ أَثۡمَرَ وَيَنۡعِهِۦٓۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمۡ لَأٓيَٰتٖ لِّقَوۡمٖ يُؤۡمِنُونَ ٩٩

"Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman" (QS.Al-An'aam:99).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah ﷻ mengeluarkan dari tumbuh-tumbuhan tananaman yang menghijau dan dari tanaman yang menghijau dikeluarkan bulir yang banyak. Konteks yang ditekankan dalam penelitian ini berawal dari "tanaman yang menghijau". Dalam konteks biologi, tanaman yang menghijau ini disebabkan munculnya klorofil yang dewasa ini banyak dikembangkan untuk pengobatan. Daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) yang digunakan dalam penelitian ini ternyata mengandung sejumlah bahan aktif golongan triterpenoid yang ternyata terakumulasi dalam bagian mesofil daun dimana banyak terdapat klorofil didalamnya (Fitriyah, 2009).

2.3 Biologi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Makhluk hidup selain tumbuh-tumbuhan yang berada di muka bumi ini Allah ﷻ juga menciptakan hewan-hewan di dalamnya. Manusia dilengkapi oleh Allah dengan akal pikiran untuk menjalankan tugasnya sebagai kholifah *fil ardhi*. Sehingga manusia harus menggunakan indera, akal serta kemampuan berfikir dengan maksimal, untuk senantiasa belajar dan memahami fenomena berbagai keanekaragaman dari hewan. Keanekaragaman hewan yang diciptakan oleh Allah memiliki morfologi yang berbeda-beda, sebagaimana dijelaskan dalam surat An-Nur/24 ayat 45:

وَٱللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَآبَّةٍ مِّن مَّآءٍۖ فَمِنۡهُم مَّن يَمۡشِي عَلَىٰ بَطۡنِهِۦ وَمِنۡهُم مَّن يَمۡشِي عَلَىٰ رِجۡلَيۡنِ وَمِنۡهُم مَّن يَمۡشِي عَلَىٰٓ أَرۡبَعٖۚ يَخۡلُقُ ٱللَّهُ مَا يَشَآءُۚ إِنَّ ٱللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيۡءٖ قَدِيرٞ ٤٥

"Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, Maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, Sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu." (Q.S. An-Nur /24:45).

Pada ayat tersebut Allah menjelaskan tabiat penciptaan mahluk-mahluk-Nya, yaitu perilaku mahluk-mahluk Allah yang ada di muka bumi. Sebagian ada yang berjalan dengan "perutnya", sebagian lagi berjalan dengan "dua kaki", dan sebagian yang lainnya berjalan dengan "empat kaki". Semua berjalan sesuai dengan fungsi

penciptaannya dan masing-masing memiliki keistimewaan yang dibekali oleh Allah (Shihab, 2003).

Penggunaan hewan coba dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*), dalam islam sendiri memperbolehkan membunuh tikus. Sabda Rosulullоah ﷺ

حَدَّثَنَا عَبْدُ اللَّهِ بْنُ مَسْلَمَةَ أَخْبَرَنَا مَالِكٌ عَنْ عَبْدِ اللَّهِ بْنِ دِينَارٍ عَنْ عَبْدِ اللَّهِ بْنِ عُمَرَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُمَاأَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ خَمْسٌ مِنْ الدَّوَابِّ مَنْ قَتَلَهُنَّ وَهُوَ مُحْرِمٌ فَلَا جُنَاحَ عَلَيْهِ الْعَقْرَبُ وَالْفَأْرَةُ وَالْكَلْبُ الْعَقُورُ وَالْغُرَابُ وَالْحِدَأَةُ

Telah bercerita kepada kami 'Abdullah bin Maslamah telah mengabarkan kepada kami Malik dari 'Abdullah bin Dinar dari 'Abdullah bin 'Umar radliallahu 'anhuma bahwa Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam bersabda: *"Ada lima jenis hewan melata yang siapa membunuhnya tidak berdosa sekalipun sedang ihram, yaitu kalajengking, tikus, anjing galak, burung gagak dan burung rajawali"*. **Shahih:Bukhori** (**3068**).

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus laboratorium (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu hewan yang banyak dimanfaatkan dalam berbagai penelitian ilmiah (Wolfensohn dan Lioyd, 2003). Tikus ini umumnya digunakan sebagai hewan model dalam penelitian-penelitian di bidang psikologi kedokteran, biologi, dan genetika (Harkness dan Wagner, 1989). Secara umum, berat badan tikus laboratorium lebih ringan dibandingkan berat badan tikus liar. Biasanya pada umur empata minggu beranya 35-40 g, dan dewasa rata-rata 200-250 g, tetapi bervariasi tergantung pada galur (Larasati, 2013).

Terdapat tiga galur tikus putih yang memiliki kekhususan untu digunakan sebagai hewan percobaan antara lain Wistar, long evans dan Sprague dawley (Malole dan Promono, 1989). Para ilmuan telah memunculkan banyak strain tikus khusus untuk eksperimen. Strain Wistar dan Sprague Dawley merupakan strain yang paling sering digunakan dalam penelitian (Harkness dan Wagner, 1989).

Penelitian tentang reproduksi pada umumnya menggunakan tikus-tikus strain Wistar dan Sprague-Dawley. Kedua strain ini merupakan hasil turunan hubungan jauh (outbreed) yang memiliki fertilisasi yang tinggi dan sifat-sifat perkawinan yang konsisten (Wilkinson *et al*., 2000). Tikus Wistar saat ini menjadi salah satu yang strain tikus paling populer yang digunakan untuk penelitian laboratorium.Hal ini ditandai oleh kepala lebar, panjang telinga, dan memiliki ekor panjang yang selalu kurang dari panjang tubuhnya.Galur tikus Sprague Dawley dan Long-Evans dikembangkan dari tikus galus Wistar. Tikus Wistar lebih aktif daripada jenis lain seperti tikus Sprague dawley. Tikus yang banyak digunakan sebagai hewan percobaan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). Hewan percobaan ini memiliki beberapa keunggulan yaitu penanganan dan pemeliharaannya mudah, biaya yang dibutuhkan tidak mahal, umur relatif pendek, sifat reproduksi menyerupai mamalia besar, lama kebuntingan singkat, angka kelahiran tinggi, siklus estrus pendek dan karakteristik setiap fase siklus jelas (Malole & Pramono 1989).

Taksonomi tikus putih menurut Hedrich (2006) adalah sebagai berikut:

Kingdom Animalia

Filum Chordata

Subfilum Vertebrata

Kelas Mamalia

Ordo Rodentia

Famili Muroidae

Genus Rattus

Spesies *Rattus norvegicus*

2.4 Morfologi dan Anatomi Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Al-Qur'an telah menjelaskan bahwa Allah menciptakan makhluknya dalam keadaan yang sangat sempurna dan seimbang, sebagaimana Allah SWT telah berfirman dalam surat Al-Qamar:54/49:

إِنَّا كُلَّ شَيۡءٍ خَلَقۡنَٰهُ بِقَدَرٖ ﴿٤٩﴾

"Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuranya" (QS.Al-Qamar:49).

ٱلَّذِي خَلَقَ سَبۡعَ سَمَٰوَٰتٖ طِبَاقٗاۖ مَّا تَرَىٰ فِي خَلۡقِ ٱلرَّحۡمَٰنِ مِن تَفَٰوُتٖۖ فَٱرۡجِعِ ٱلۡبَصَرَ هَلۡ تَرَىٰ مِن فُطُورٖ ﴿٣﴾

"Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis, kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang?" (QS. Al-Mulk:03).

Berkenaan dengan konsep penciptaan hewan atau pun manusia, Allah SWT telah memberikan petunjuk dalam al-Qur'an yang dewasa ini digunakan oleh para ilmuan modern untuk mengembangkan riset di bidang konsep embriologi, yang masih terdapat kaitan dengan susunan anatomi alat kelamin betina yang merupakan tempat pertumbuhan dari embrio.

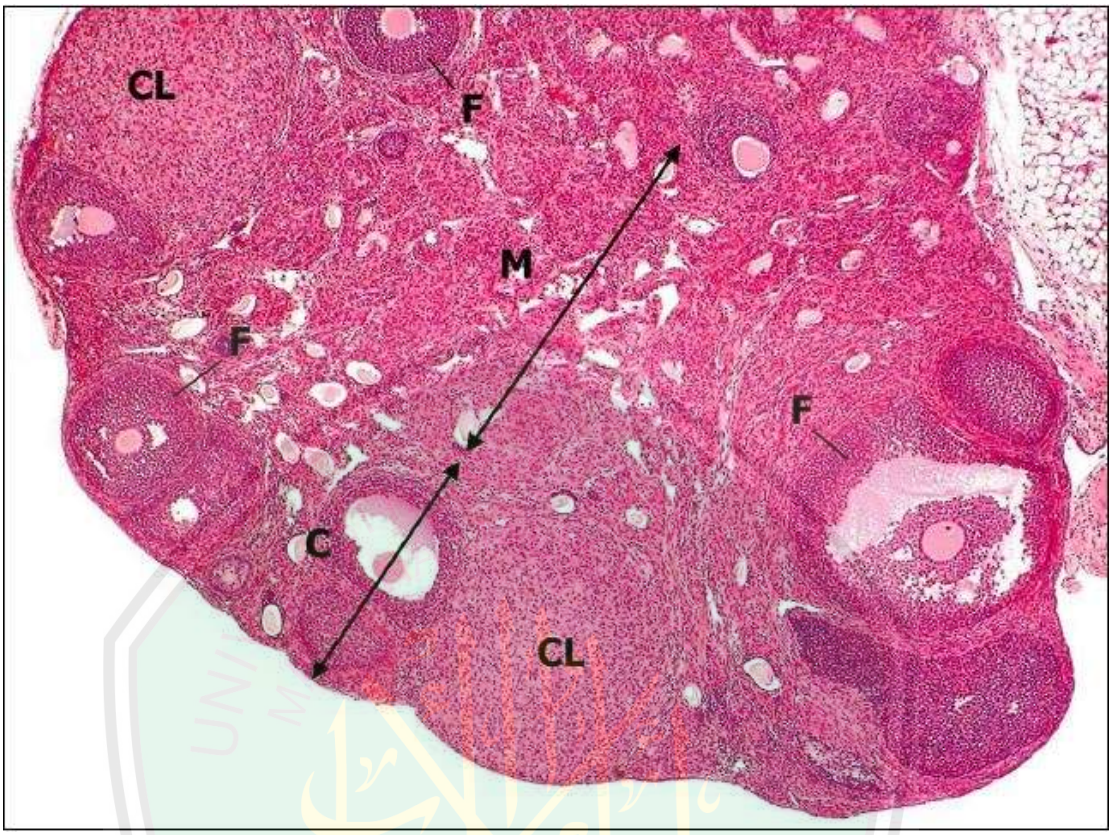
Secara anatomi alat kelamin betina dapat dibagi menjadi 3 bagian besar yaitu: gonad atau ovarium yang merupakan alat kelamin utama yang berfungsi menghasilkan telur, saluran-saluran reproduksi betina terbagi menjadi: oviduct atau tuba falopii, uterus yang terbagi lagi atas kornua uteri dan korpus uteri, servik dan vagina, alat kelamin bagian luar yang terdiri atas klistoris dan vulva. Pada mamalia ovarium terdapat sepasang dan tempatnya di dekat ginjal dimana gonad berasal (Partodihrdjo, 1992). Ovarium seperti halnya testis terletak dalam rongga perut. Ovariun terikat pada suatu untaian ligamentum luas (broad ligament), oleh suatu lipatan mesentrium yang disebut mesovarium (Bevelander, 1988).

Ovarium diselaputi oleh selapis sel-sel yang berasal dari lapisan peritonium, yang kemudian berubah menjadi bentuk kubus disebut epitel germinal (Yatim,1994). Ovarium dikenal sebagai kelenjar ganda sebab mampu bertindak sebagai kelenjar eksokrin (sitogenik) dan endokrin (Leeson *et al.,* 1996). Sebagai kelenjar eksokrin

berfungsi menghasilkan telur dan sebagai kelenjar endokrin befungsi menghasilkan hormon steroid yaitu estrogen, progesteron, relaxin dan Inhibidin (Susilawati, 1992).

Tikus (*Rattus Norvegicus*) merupakan hewan politocous karena mempunyai kemampuan menghasilkan anak lebih dari satu dalam setiap kelahiran. Hewan pilotocous memiliki bentuk ovarium seperti buah murbei (Partodihardjo,1992). Morfologi buah murbei sangat tepat untuk menggambarkan kondisi morfologi ovarium mencit. Sebagaimana kita ketahui buah murbei memiliki bentuk lonjong dengan permukaan tidak rata dan memiliki granula-granula yang tidak sama besar. Kondisi tersebut dapat dijadikan gambaran bahwa pada permukaan ovarium (bagian korteks) terdapat banyak folikel dalam berbagai tahap perkembangan dengan ukuran berbeda. Kondisi tersebut menyebabkan penampilan permukaan ovarium yang tidak rata (bergranula). Ovarium mencit memiliki dua bagian utama yang terdiri atas korteks dan medula.

Ovarium terdiri dari dua bagian yaitu medulla dan kortex (Susilawati, 1992), kortex adalah bagian kulit ovarium terletak di bagian germinal. Terdiri dari jaringan ikat interestrial yang disebut stroma. Stroma kortex terdiri dari jalinan serat retikulosa dan sel bentuk gelendong mirip otot polos. Pada stroma kortex banyak terdapat folikel ketika folikel atresia (Yatim, 1994). Ovarium memiliki jaringan predominan yang disebut dengan korteks dan merupakan tempat perkembangan folikel (Hafez, 1993).



Gambar 2.3. Gambaran Anatomi Ovarium Tikus Normal (Pewarnaan H&E, perbesaran 40x). C) Cortex, M) Medula, CL) Korpus luteum, F) Folikel.

2.5 Fisiologi Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Fisiologi ovarium sangat erat kaitanya dengan pembentukan dan perkembangan folikel (folikulogenesis). Menurut Suheimi (2007), folikulogenensis merupakan proses dimana sel-sel germinal di ovarium berkembang diantara sel-sel somatik serta menjadi matur dan mampu untuk difertilisasi. Folikulogenesis diatur oleh sinyal-sinyal di dalam ovarium dan hormon-hormon dari hipofisa. Menurut

Yatim (1990), perkembangan folikel ovarium melalui beberapa tahapan yang meliputi : folikel muda, folikel primer, folikel skunder, folikel tersier, folikel Graff.

Folikel muda terdiri dari oosit besar yang diselaputi selapis sel-sel folikel yang gepeng. Oosit berinti yang eksentrik (agak ke pinggir), banyak gelembung kecil dan mengandung nucleolus besar. Bisa tampak kromosom, alat golgi berkembang, banyak mitokondria kecil, dan sitoplasma (ooplasma) banyak pula gelembunganya (Yatim, 1990).

Tahap pertama merupakan tahap pertumbuhan folikel adalah pembesaran ovum yang diikuti oleh perkembangan lapisan-lapisan sel granulosa sekitar ovum dan perkembangan beberapa lapisan sel-sel teka sekitar sel-sel granulosa. Sel teka berasal dari stroma ovarium dan segera bersifat epitheloid dan berfungsi menyekresi bagian terbesar esterogen, sedangkan sel-sel granulosa akan menyekresikan progesteron (Guyton, 2003). Sel-sel folikular berproliferasi secara mitosis membentuk epitel folikar berlapis atau membran garnulosa. Selapis tebal zona pellusida mengelilingi oosit yang tersusun paling sedikit 3 glikoprotein yang berbeda. Dan diduga bahwa oosit dan sel-sel folikular (sel-sel granulosa) memberikan kontribusi pada sintesis zona pellusida. Filopodia dari sel-sel folikular dan mikrovili dari oosit menembus zona pellusida dan berhubungan satu sama lain dengan *gap junctions* (Junguiera *et al.*,1992).

Sementara sel stroma membentuk diri jadi *theca folliculi* (kulit folikel), yang kemudian banyak dimasuki pembuluh darah dan membuat plexus Theca kemudian terbagi menjadi dua: *theca interna* sebelah dalam dan *theca interna* sebelah luar.

Yang dalam selnya menggetahkan, yang luar mengandung jaringan ikat. Oosit primer menempuh meiosis I sampai tahap *laptoten profase* (Yatim, 1990).

Tahap kedua merupakan tahap pertumbuhan dari folikel primer ke folikel sekunder. Terjadi pada waktu hewan betina telah lahir dan menjalani proses pendewasaan tubuh. Folikel sekunder ini bentuknya lebih besar karena jumlah sel-sel granulosanya lebih banyak, ovumnya telah memiliki pembungkus tipis yang disebut dengan membrana vitelin, apabila diluar membran vitelin sudah terdapat satu lagi membran yang lebih tebal yang disebut dengan zona pelusida (Partodihardjo, 1992).

Tahap ketiga merupakan tahap pertumbuhan folikel dari folikel sekunder menjadi folikel tertier. Pertumbuhan menjadi folikel tertier ini terjadi pada waktu hewan menjadi dewasa dan dilanjutkan pada siklus birahi (Partodihardjo, 1992). Folikel tersier disebut juga folikel caviti atau folikel antral, dicirikan dengan adanya caviti (antrum) dan diferensiasi teka folikuli menjadi teka interna dan teka eksterna. Pertumbuhan folikel tersier terutama disebabkan pembelahan yang sangat cepat dari sel-sel folikel (Guerin, 2002).

Tahap keempat merupakan tahap perkembangan dari folikel tertier menuju folikel de Graff. Tahap ini terjadi beberapa hari menjelang estrus. Folikel de Graff adalah bentuk folikel yang terakhir dan terbesar pada ovarium. Dalam folikel de Graff, ovum terbungkus oleh masa sel yang disebut dengan cumulus oosporus. Telur bersama dengan masa sel yang membungkus menonjol ke dalam ruang antrum yang penuh dengan cairan folikel dan semakin menepi menjelang ovulasi (Partodihardjo, 1992). Ketika folikel telah benar-benar matang dan membesar, maka folikel akan

pecah dan ovum dilepaskan kedalam rongga abdomen. peristiwa ini disebut sebagai ovulasi (Ganong, 1997).

Setelah ovulasi, terjadi kawah pada permukaan ovarium. Kawah ini adalah folikel yang telah melepaskan isinya, yang kemudian terisi oleh darah dan cairan limfe. Pada waktu tersebut, hewan betina tidak lagi berahi, fase ini dalam siklus berahi disebut fase luteal. Dalam fase luteal lambat-lambat darah yang membeku diresorpsi dan luteinisasi mulai. Luteinisasi adalah proses pembentukan corpus luteum oleh sel-sel granulose dan sel-sel theca (Partodihardjo, 1992).

Corpus luteum atau badan kuning berasal dari folikel de Graaf yang ovumnya telah berovulasi. Badan itu berwarna kuning karena sel-sel granulosanya yang mengandung pigmen lipokrom yang berwarna kuning. Badan ini selain mengandung sel granulose, juga sel jaringan ikat yang berasal dari theca interna, yang berubah struktur dan fungsi. Antrum dimasuki darah dan jaringan ikat. Kedua jenis sel badan itu sama berfungsi untuk menggetahkan hormon steroid: progesteron dan estrogen. Sedangkan corpus albicans ialah korpus luteum yang sudah berhenti bekerja menghasilkan hormon (Yatim, 1990).

Suatu ovarium selalu mempunyai folikel-folikel yang bergernerasi, artinya tidak berhasil menjadi folikel de Graaf. Folikel atresia adalah folikel tersier yang besar dan hampir menjadi folikel de Graaf atau telah menjadi folikel de Graaf tapi tidak berhasil pecah pada waktu ovulasi (atresia = tak berlubang). Keadaan ini akan merupakan kelainan bila jumlah folikel yang atresia itu banyak (Partodihardjo, 1992).

Atresia merupakan proses degenerasi dimana oosit mati tanpa keluar melalui ovulasi. Pada peristiwa atresia ini folikel berdegenerasi bersama-sama dengan oosit tanpa memandang stadium perkembangannya (Geneser, 1994). Atersia terjadi pada semua stadium perkembangan folikel, bisa spontan atau sebagai respon faktor lingkungan atau obat-obatan. Atresia spontan utamanya karena ketidakadaan faktor trofi esensial pada saat kritis pembentukan atau maturasi sel. Pada mekanisme atresia ini, telah terjadi eliminasi pada oosit dan sel-sel granulosa (Winda, 2006).

2.6 Mekanisme Hormonal Hewan Betina

Pemantauan siklus estrus berperan penting dalam menentukan status reproduksi baik untuk tujuan menghambat fertilisasi dan kelahiran atau kontrasepsi maupun untuk meningkatkan fertilisasi dan kelahiran misalnya upaya mengatasi infertilitas atau untuk tujuan konservasi binatang langka (Nalley e*t al.*, 2011). Masa subur ditandai dengan dilepaskannya sel telur betina matang melalui peristiwa ovulasi. Pada masa tersebut hormon estrogen mencapai kadar maksimal dan kemudian menurun drastis. Setelah ovulasi terjadi, rendahnya kadar estrogen akan digantikan dengan mulai meningkatnya kadar progesteron. Peningkatan kadar progesteron menandakan ovulasi telah terjadi dan kadar progesteron akan mencapai puncaknya pada fase *midluteal siklus*. Fluktuasi kadar hormon-hormon tersebut merupakan respons terhadap bekerjanya hormon-hormon hipofisis pada organ ovarium (Campbell, 2004).

Ovarium membuat estrogen, progesteron, androgen dan suatu hormone

nonsteroid yang disebut dengan relaksin. Kebanyakan peneliti sepakat bahwa folikel ovarium yang masak merupakan sumber penting estrogen. Akan tetapi kebanyakan bukti berimplikasi bahwa membran granulosa dan teka interna sebagai sumbernya. Kegiatan fisiologis dalam ovarium hampir tidak terlepas dari peranan hormon, termasuk aktivitas folikulogenesis (Turner dan Bagnara, 1988). Aktivitas pertumbuhan dan perkembangan folikel ovarium dipengaruhi oleh beberapa hormon, diantaranya : 1) Luthein Hormon (LH), 2) Follicle Stimulating Hormon (FSH), 3) Estrogen dan 4) Progesteron.

Siklus reproduksi dimulai dengan pelepasan GnRH dari hipotalamus, yang merangsang pituitary anterior untuk menyekresikan FSH dan LH dalam jumlah kecil. Hormone perangsang folikel (seperti yang ditunjukkan oleh namanya) merangsang pertumbuhan folikel, dibantu oleh LH, dan sel- sel folikel yang sedang tumbuh mulai membuat estradiol. (Campbell, 2010).

Pada permulaan siklus seksual wanita setiap bulan, ketika sekresi estradiol oleh folikel yang sedang tumbuh mulai naik secara tajam. Pada sekitar permulaan menstruasi, konsentrasi FSH dan LH meningkat. Peningkatan ini menyebabkan percepatan pertumbuhan sel teka dan sel granulosa sekitar 20 folikel ovarium setiap bulan. Sel teka dan sel granulosa juga menyekresikan cairan folikular yang mengandung estrogen konsentrasi tinggi. Penimbunan cairan ini dalam folikel menyebabkan terbentuk antrum dalam sel-sel teka dan sel granulosa. Setelah antrum ini terbentuk, sel teka dan granulosa terus mengadakan proliferasi, kecepatan sekresi bertambah cepat, dan setiap folikel yang sedang tumbuh menjadi folikel vesikular.

Bila folikel vesikular terus membesar, sel teka dan granulosa terus berkembang pada salah satu kutub folikel. Dalam massa ini terletak ovum (Guyton, 1995).

Lutein Hormon (LH) berperan merangsang sel-sel teka pada folikel yang masak untuk memproduksi esterogen, selanjutnya oleh karena kadar esterogen yang meninggi ini produksi LH menjadi semakin tinggi dan ketinggian kadar LH ini menyebabkan terjadinya ovulasi (Partodihardjo, 1992). Dibawah pengaruh LH, folikel yang telah berkembang akan menyekresikan estrogen dan progesteron. LH menyebabkan terjadinya ovulasi dan juga mempengaruhi korpus luteum untuk menyekresikan estrogen dan progesteron. Proses terahir ini disebut dengan laktogenik, yang pada beberapa spesies berada di bawah pengaruh prolaktin (Suherman, 1995).

FSH mempunyai fungsi utama untuk merangsang pertumbuhan folikel pada ovarium, tetapi tidak menyebabkan ovulasi (Partodihardjo, 1992). Fungsi pokok FSH adalah menstimulasi perkembangan gametogenesis dan folikel pada wanita. FSH bekerja pada folikel ovarium yang belum dewasa, menginduksi perkembangan oosit dan folikel dewasa (Katzung, 2002).

Estrogen merupakan hormon yang berperan penting pada kerja sel granulosa, sel teca, dan sel luteal ovarium. Hormon estrogen ini juga berperan pada reseptor FSH dan LH. Reseptor FSH pada sel granulosa berperan dalam perkembangan folikel. Hormon FSH bersifat obligatori bagi seleksi dan perkembangan folikel dominan. Sistem sinyal reseptor FSH berperan penting dalam pertumbuhan dan diferensiasi folikel dominan melalui pembentukan cairan folikel, proliferasi sel,

produksi E2 dan ekspresi reseptor LH (Suhaemi, 2007). Selain FSH yang berperan dalam perkembangan folikel, hormon LH diketahui pula membantu perkembangan folikel hingga folikel mencapai proses pematangan yang sempurna. LH diketahui juga berperan dalam merangsang produksi estrogen dalam folikel oleh sel-sel granulosa dan teca interna (Partodihardjo, 1992). Baik LH maupun FSH diperlukan untuk steroidogenesis ovarium dengan tepat. LH menstimulasi produksi androgen oleh sel-sel tersebut, dan FSH menstimulasi perubahan androgen menjadi estrogen oleh sel granulosa (Katzung, 2002).

Progesteron memiliki aksi yang bervariasi terhadap organ reproduksi betina, dan dibawah kondisi fisiologik sering bekerja secara sinergik dengan estrogen. Progesteron terdapat dalam ovary, testis, korteks adrenal dan plasenta (Turner, 1988). Progesteron dianggap dapat mewakili teridentifikasikannya peristiwa ovulasi. Progesteron hanya akan disekresikan melalui suatu badan yang terbentuk setelah ovulasi terjadi. Setelah ovulasi terjadi, kadar progesteron mulai meningkat, dan terus meningkat sampai mencapai jumlah maksimal (Campbell, 2004). Jika terjadi fertilisasi pada sel telur hasil ovulasi, maka kadar progesteron dipertahankan sampai kebuntingan terjadi. Sebaliknya, jika sel telur hasil ovulasi tidak difertilisasi, maka kadar progesteron menurun secara gradual, dan terus menurun sampai berakhirnya siklus (Nadjamudin *et al*., 2010). Kadar progesteron tetap rendah di awal siklus berikut sampai ovulasi terjadi lagi (Ward *et al*,. 2005).

2.7 Mekanisme Kerja Bahan Aktif Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan Beluntas (*Plucea indica* (L.) Urban) pada Organ Reproduksi

Berdasarkan penelitian sebelumnya, pegagan dosis rendah efektif menaikkan jumlah folikel ovarium, namun pada dosis lebih tinggi cenderung menurunkan jumlah folikel ovarium. Penurunan jumlah folikel tersebut, diduga karena adanya peranan zat aktif terhadap metabolisme hormonal, terutama terkait dengan metabolisme dan sintesis hormon reproduksi. Keberadaan zat aktiftriterpenoid saponin pada dosis tinggi diduga mampu menyebabkan *negative feedback* pada hipotalamus selanjutnya mengakibatkan gangguan sekresi GnRH, maka akan berpengaruh terhadap pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel (Limbong, 2007) serta proses ovulasi.

Menurut Robinson (1995), triterpenoid adalah turunan lipid yang merupakan senyawa yang dianggap berperan sebagai senyawa-antara dalam biosintesis steroid, senyawa ini harus dibuat sekurang-kurangnya dalam jumlah kecil oleh semua makhluk yang mensintesis steroid. Dalam jumlah besar zat aktif triterpenoid yang merupakan turunan lipid diduga mampu menyebabkan penghambatan pelepasan LH dan FSH. Pada dosis tinggi, zat aktif triterpenoid diduga mampu memacu terbentuknya estrogen, sehingga kadar estrogen yang tinggi dalam darah akan mempengaruhi hipotalamus untuk mengurangi pelepasssan LH dan FSH. Dengan demikian, folikel tertier tidak memiliki LH dan FSH yang cukup untuk melanjutkan perkembangan sampai tahapan de Graff.

Zat asiatikosida, saponin, asam asiatat dan madekossida adalah bahan aktif yang mampu memacu produksi kolagen dan bermanfaat sebagai protein pemacu proses penyembuhan luka pada manusia. Madekossida juga berperan penting karena mampu memperbaiki kerusakan sel dengan sintesis kolagen (Selfitri, 2008) termasuk sel granulosa ovarium. Perkembangan sel granulosa menyebabkan dihasilkannya inhibidin, yang berperan dalam proses feedback negatif terhadap GnRH dan menyebabkan penghambatan pelepasan LH dan FSH. Bahan aktif triterpenoid saponin, asiatikosida dan madekosida, dapat memperbaiki sel-sel granulosa yang mampu menghambat sekresi hormon gonadotropin yang menyebabkan folikel tidak dapat berkembang. Sel-sel granulosa pada folikel ovarium mensekresikan suatu inhibidin yang berperan sebagai penghambat sintesis dan sekresi gonadotropin khususnya FSH (Winda, 2006).

Pegagan juga memiliki komponen bioaktif tambahan yang mengandung zat fenol tinggi yang merupakan golongan flavonoid, seperti quercetin, kaemferol, katekin, rutin, apigenin dan narigin, serta minyak volatil seperti ceryophyllene, farnesol dan elemene (Hashim, 2011). Balasubramin and Kumar (2010) juga menyebutkan adanya kandungan isoflavon yang dapat digunakan sebagai pengganti estrogen karena isoflavon mempunyai dua bentuk struktur yang membentuk estradiol yaitu genistein dan diadzein. Kandungan isoflavon terutama genistein dan diadzein dari tanaman pegagan memiliki mekanisme kerja yang menyerupai estrogen dengan bekerja selektif pada reseptor 17-β estradiol. Hal ini terbukti dengan adanya aktivitas SERM (*Selective estrogen reseptor modulator)* pada fitoestrogen. SERM merupakan

senyawan non-steroid yang mampu meningkatkan masa tulang dan mencegah kehilangan masa tulang. SERM memiliki sifat *estrogenic* dan *anti estrogenic* (Rivaldi, 2011).

Kandungan metabolit sekunder utama pada beluntas antara lain alkaloid, flavonoid dantannin. Alkaloid merupakan senyawa organik yang terdapat banyak di alam. Alkaloid didefinisikan sebagai senyawa bersifat basa, memiliki amino yang komplek dan atom nitrogen yang berasal dari tumbuhan (Susetyarini, 2003). Dalam organ reproduksi betina cara kerja alkaloid diduga dengan menekan hormon reproduksi, yaitu hormon estrogen sehingga proses oogenesis terganggu.

Pada bidang farmakologi flavonoid ditemukan dalam bentuk cincin heterosiklik, dan bersifat aktif biologis. Flavonoid dapat menghambat enzim aromatase yaitu enzim yang berfungsi mengkatalis konversi androgen menjadi estrogen. Tingginya kosentrasi estrogen akan menyebabkan umpan balik negatif ke hipofisis sehingga menghambatpelepaskan FSH dan LH, menghambat proses mitosis dan proses folikulogeneis dan dapat mempengaruhi proses ovulasi (Winarno,1997).

Tanin memiliki struktur kimia yang komplek. Tanin biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis yang berwarna coklat kuning yang dapat larut dalam air, terutama air panas, membentuk larutan koloid bukan larutan sebenarnya. Makin murni tanin, maka kurang kelarutannya dalam air dan makin mudah membentuk kristal. Tanin juga larut dalam pelarut organik yang polar, seperti benzena dan kloroform. Larutan tanin dapat diendapkan dengan penambahan asam mineral atau garam. Beberapa tanin terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan

menghambat enzim seperti “reserve” transkriptase dan DNA topoisomerase (Robinson, 1991).

2.8 Radikal Bebas

Radikal bebas (*free radical*) atau sering juga disebut senyawa oksigen reaktif (*reactive oxygen species*/ROS) adalah sebuah molekul atau atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas bersifat tidak stabil, sangat reaktif dan dapat merebut elektron dari molekul lain dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya. Molekul yang kehilangan elektron ini dapat bersifat reaktif, terutama asam lemak tidak jenuh yang kemudian ditransformasikan menjadi radikal bebas yang sangat reaktif (Nabet, 1996). Karena reaktif maka radikal bebas dapat menimbulkan kerusakan sel dan komponen sel seperti lipid, protein dan DNA, serta dapat menyebabkan mutasi dan bersifat karsinogenik (Droge, 2002; Thannical, 2000; Clarkson, 2000).

Pembentukan radikal bebas akan dinetralisir oleh antioksidan yang diproduksi oleh tubuh dalam jumlah yang berimbang. Pengaruh negatif radikal bebas terjadi jika jumlahnya melebihi kemampuan detoksifikasi oleh sistem pertahanan antioksidan tubuh sehingga menimbulkan kondisi stres oksidatif. Radikal bebas dapat terbentuk melalui dua cara, yaitu : (1) secara endogen, sebagai respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh, dalam sel (intrasel) maupun ekstrasel, dan (2) secara eksogen, radikal bebas didapat dari polutan lingkungan, asap rokok, obat-obatan, dan radiasi ionisasi atau sinar ultra violet (Supari, 1996; Langseth, 2000).

Dalam keadaan normal radikal bebas yang diproduksi didalam tubuh akan dinetralisir oleh antioksidan yang ada didalam tubuh. Bila kadar radikal bebas terlalu tinggi seperti saat melakukan aktivitas fisik berat, maka kemampuan dari antioksidan endogen tidak memadai untuk menetralisir radikal bebas sehingga terjadi keadaan yang tidak seimbang antara radikal bebas dengan antioksidan yang disebut stres oksidatif. Stres oksidatif jangka panjang telah terbukti dapat menimbulkan berbagai penyakit degenerative (Harjanto,2004).

2.9 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitasnya bisa dihambat. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok, yaitu (Winarsih, 2005):

1. **Antioksidan primer (antioksidan endogen atau antioksidan enzimatis).** Contohnya enzim Superoksidase Dismutase (SOD), katalase dan Glutation peroksidase (GPx). Enzim-enzim ini mampu menekan atau menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk lebih stabil. Reaksi ini disebut sebagai *chain-breaking-antioxidant.*

a. Superoksidase Dismutase (SOD)

Tubuh dalam kondisi normal akan memproduksi antioksidan sebagai sistem pertahanan tubuh akibat meningkatnya jumlah produksi radikal bebas. Menurut Haliwel antioksidan yang terdapat dalam tubuh kita dapat dibagi menjadi dua yaitu: antioksidan yang terletak didalam sel atau antioksidan enzimatik dan antioksidan yang terletak diluar sel atau antioksidan nonenzimatik. SOD adalah salah satu indikator yang digunakan untuk mencegah pembentukan senyawa radikal atau reaksi antar senyawa radikal atau oksidan lain dengan molekul tubuh (Harjanto, 2003).

Superoksidase Dismutase (SOD) disebut juga metalloenzim merupakan salah satu enzim antioksidan endogen enzimatik yang mengkalisis dismutase radikal bebas anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen kemudian akan dihancurkan oleh enzim katalase (CAT) dan Glutation peroksidase (GPX). SOD terdapat pada semua organisme yang mengkonsumsi oksigen, beberapa bakteri anaerob aerotoleran, dan obligat anaerob. Semua SOD adalah metaloprotein yang mengandung cooper (Cu), besi (Fe), atau Mangan (Mn) pada sisi aktifnya (Deshpande *et al.*,1996). Enzim SOD berfungsi untuk mencegah, menurunkan reaksi oksidasi, menghambat, menghentikan, dan menstabilkan radikal bebas (Margaill, 2005).

SOD akan mengkatalisis reaksi dismutasi radikal anion superoksid menjadi H_2O_2. Dalam mamalia terdapat 3 bentuk SOD, yaitu (Winarsih, 2007):

1. Mn-SOD yang terletak dalam mitokondria

2. CuZn-SOD terutama dalam sitosol
3. EC-SOD, yang terletak dalam cairan ekstraseluler.

b. Katalase

Enzim katalase disamping mendukung aktivitas enzim SOD juga dapat mengkatalisa perubahan berbagai macam peroksida dan radikal bebas menjadi oksigen dan radikal bebas menjadi oksigen serta air (Algameta, 2009).

c. Glutation peroksidase (GPx).

Glutation peroksidase sebagai enzim antioksidan bekerja sebagai peredam (quenching) radikal bebas (Sen *et al*, 2010). Glutation peroksidase adalah enzim intraseluler yang terdispersi dalam sitoplasma, namun aktivitasnya juga ditemukan dalam mitokondria. Glutation peroksidase ekstraseluler (secara genetik berbeda dari bentuk intraseluler) terdeteksi dalam berbagai jaringan. Glutation peroksidase adalah enzim yang berperan penting dalam melindungi organisme dari kerusakan oksidatif dan mengandung selenium (Se) pada sisi aktifnya. Kerja enzim ini mengubah molekul hydrogen peroksida (yang dihasilkan SOD dalam sitosol dan mitokondria) dan berbagai hidro serta lipid peroksida menjadi air. (Sugianto, 2011).

2. Antioksidan sekunder (antioksidan eksogen atau antioksidan non enzimatis).

Contoh antioksidan sekunder ialah vitamin E, vitamin C, β-karoten, isoflavon, asam urat, bilirubin, dan albumin. Senyawa-senyawa ini dikenal sebagai

penangkap radikal bebas (*scavenger free radical*), kemudian mencegah amplifikasi radikal.

3. **Antioksidan tersier**, misalnya enzim DNA-repair, metionin sulfoksida reduktase, yang berperan dalam perbaikan biomolekul yang disebabkan oleh radikal bebas.

2.10 Malondialdehida (MDA)

Malondialdehyde (MDA) adalah senyawa toksik yang merupakan salah satu hasil akhir dari terputusnya rantai karbon asam lemak pada proses peroksidasi lipid. Lipid hidroperoksida yang terbentuk pada proses propagasi peroksidasi lipid bersifat stabil, tetapi jika ada transisi metal misalnya Fe, maka substitusi tersebut akan dikatalisa menjadi radikal peroksi (L-O*) yang pada akhirnya membentuk produk akhir yaitu malondialdehyde (MDA). Kadar MDA yang terbentuk dianggap identik dengan kadar peroksidasi lipid (Aylindania, 2007).

Peroksidasi lipid adalah mekanisme dari trauma sel, baik pada tumbuhan maupun hewan, dengan demikian peroksidase lipid digunakan sebagai indicator dari stress oksidatif pada sel dan jaringan. Endoperoksida lipid yang berasal dari asam lemak tak jenuh ganda, bersifat tak stabil dan terurai membentuk beberapa senyawa kompleks, termasuk senyawa karbonil reaktif, terutama Malondialdehida (MDA). Sehingga pengukuran MDA sering digunakan sebagai indikator peroksidasi lipid jaringan (Mc.Kee, 2003).

Malondialdehid merupakan suatu produk akhir peroksidasi lipid, yang biasanya digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid dan menggam-

barkan derajat stres oksidatif (Hendromartono, 2000). MDA adalah senyawa dialdehida atau berkarbon tiga yang reaktif merupakan produk final peroksidasi lipid di dalam membran sel. MDA dalam material hayati terdapat dalam bentuk bebas atau membentuk ikatan kompleks dengan unsur lainnya di dalam jaringan (Suryohudoyo, 2000).

Kadar MDA di dalam tubuh dapat meningkat melalui beberapa proses seperti aktivitas fisik yang meningkatkan sehingga metabolisme juga meningkat. Kehidupan dengan aktivitas fisik berat dan pengaruh lingkungan yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas sulit dihindari. Antioksodan diketahui dapat mencegah terbentuknya radikal bebas (Droge, 2002). Ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan peroksidasi lipid sehingga meningkatkan kadar malondialdehid (MDA) dan menurunkan aktivitas superoksida dismutase (SOD) (Caramori dan Papi, 2004).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian tentang pengaruh kombinasi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban) terhadap jumlah folikel, kadar SOD dan MDA ovarium tikus putih (*rattus norvegicus)* betina merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan beberapa dosis ekstrak daun pegagan dan beluntas dengan 4 ulangan.

3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 variabel yang meliputi: 1) variabel bebas, 2) variabel terikat dan 3) variabel terkendali. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan beluntas(*Plucea indica.* (L) Urban) yang dibuat dalam 5 dosis, yaitu: 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 75 mg/kg BB, 100 mg/kg 125 mg/kg BB, dan 200 mg/kg BB; yang termasuk variabel terikat yang digunakan adalah perkembangan profil histologi dan kadar antioksidan pada ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus)* betina, sedangkan variabel terkendali adalah tikus putih (*Rattus norvegicus)* betina fertil dari galur Wistar.

3.3 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pendidikan dan Kimia Organik Jurusan Kimia untuk ekstraksi ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban), Laboratorium Biosistem, dan Laboratorium Optik Jurusan Biologi FakultasSains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, pada bulan Maret – Agustus 2015.

3.4 Populasi dan Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus)* betina yang berumur ± 2 bulan, berat badan ± 100 - 150 gram dan jenis kelamin betina. Jumlah sampel yang digunakan adalah 24 ekor tikus putih (*Rattus norwegicus)* betina yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan. Diperoleh dari peternak Malang.

3.5 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian meliputi: kandang pemeliharaan, sonde lambung, seperangkat alat gelas, timbangan analitik, stopwatch, corong buchner, perangkat rotary evaporator vacum, 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, spektrofotometer, micropipet, dan Mikroskop binokuler Nikon E 100.

Bahan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus)* betina fertil galur Spague Dalue, pellet, serbuk daun pegagan dan beluntas dari Balai Materia Medika Batu, hormone prostaglandin, Na CMC, aquades, chloroform, formalin 10%, ethanol, parafin, running tap water, xylene, meyer hematoshirine, eosin stain, dan pewarna giemsa.

3.6 Kegiatan Penelitiaan

3.6.1 Persiapan Hewan Coba

Sebelum penelitian dilakukan disiapkan tempat pemeliharaan hewan coba yang meliputi kandang (bak plastik) berbentuk segi empat, sekam, tempat makan dan minum mencit.

3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel

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

a. Kelompok I (kontrol): Tikus yang diberikan 0,5 ml Na CMC 0,5%.
b. Kelompok II: Tikus yang diberi perlakuan ekstrak pegagan dengan dosis 25 mg/kg BB + ekstrak beluntas dosis 25 mg/kg BB+ 0,5 ml Na CMC 0,5%.
c. Kelompok III: Tikus yang diberi perlakuan ekstrak pegagan dengan dosis 50 mg/kg BB + ekstrak beluntas dosis 50 mg/kg BB+ 0,5 ml Na CMC 0,5%.
d. Kelompok IV: Tikus yang diberi perlakuan ekstrak pegagan dengan dosis 75 mg/kg BB + ekstrak beluntas dosis 75 mg/kg BB+ 0,5 ml Na CMC 0,5%.

e. Kelompok V: Tikus yang diberi perlakuan ekstrak pegagan dengan dosis 125 mg/kg BB + ekstrak beluntas dosis 125 mg/kg BB+ 0,5 ml Na CMC 0,5%.

f. Kelompok II: Tikus yang diberi perlakuan ekstrak pegagan dengan dosis 200 mg/kg BB + ekstrak beluntas dosis 200 mg/kg BB+ 0,5 ml Na CMC 0,5%.

3.6.3 Pembuatan Ekstrak dan Penyerentakan Siklus Birahi

Pembuatan ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan ekstrak beuntas (*Plucea indica* (L.) Urban) dilakukan melalui tahapan sebagai berikut :

1. Serbuk daun pegagan yang telah halus dimaserasi dengan pelarut ethanol 70% selama 24 jam sambil sesekali diaduk
2. Serbuk yang telah dimaserasi disaring dengan corong bunchner
3. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator suhu 40^0C sampai diperoleh ekstrak kental
4. Ekstrak kental yang dihasilkan selanjutnya disimpan dan digunakan untuk perlakuan

Penyerentakan siklus birahi pada tikus putih betina dilakukan dengan memberikan preparat hormon prostaglandin 0,01 ml yang diinjeksi secara intramuscular sebanyak 0.1 ml.

3.6.4 Pembuatan Sediaan Larutan Na CMC 0,5 %

Sediaan larutan Na CMC 0,5% dibuat dengan menaburkan 500 mg Na CMC kedalam 10 ml aquadest panas, kemudian dibiarkan selama kurang lebih 15 menit sampai berwarna bening dan berbentuk menyerupai jel. Selanjutnya diaduk hingga

menjadi massa yang homogen dan diencerkan dalam labu ukur dengan aquadest hingga volume 100 ml.

3.6.5 Pemberian Perlakuan dan Pengambilan Sampel

Kombinasi ekstrak pegagan dan beluntas diberikan secara oral dengan cara dicekok menggunakan sonde setelah 3 hari injeksi hormon prostaglandin. Pemberian ekstrak dilakukan setiap hari pada pukul 09.00 pagi selama 18 hari sesuai dosis yang ditentukan. Kemudian dibedah tikus pada fase diestrus dan diambil organ ovarium bagian kiri digunakan uji SOD dan MDA, sedangkan ovarium bagian kanan dibuat preparat histologis.

3.6.6 Pembuatan dan Pengamatan Preaparat Histologi

Pembuatan preparat histologi ovarium kanan dilakukan dengan langkah sebagai berikut:

1. Tahap Fiksasi

Pada tahap ini, ovarium difiksasi pada larutan formalin 10% selama 1 jam, diulang sebanyak 2 kali pada larutan yang berbeda.

2. Tahap Dehidrasi

Pada tahap ini, ovarium yang telah difiksasi kemudian didehidrasi pada larutan ethanol 70 % selama 1 jam, kemudian dipindahkan dalam larutan ethanol 80%, dilanjutkan kedalam larutan ethanol 95 % sebanyak 2 kali dan dalam ethanol absolut selama 1 jam dandiulang sebanyak 2 kali pada ethanol absolut yang berbeda.

3. Tahap Clearing (Penjernihan)

Pada tahap ini, ovarium yang telah didehidratasi kemudian diclearing untuk menarik kadar ethanol dengan menggunakan larutan xylene I selama 1,5 jam dan dilanjutkan ke larutan xylene II selama 1,5 jam.

4. Tahap Embedding

Pada tahapan ini, ovarium dimasukkan kedalam kaset dan diinfiltrasi dengan menuangkan paraffin yang dicairkan pada suhu 60^{o}C, kemudian parafin dibiarkan mengeras dan dimasukkan ke dalam freezer selama ± 1 jam.

5. Tahap Sectioning (Pemotongan)

Pada tahapan ini, ovarium yang sudah mengeras dilepaskan dari kaset dan dipasang pada mikrotom kemudian dipotong setebal 5 micron dengan pisau mikrotom. Hasil potongan dimasukkan ke dalam water bath bersuhu 40oC untuk merentangkan hasil potongan, hasil potongan kemudian diambil dengan objeck glass dengan posisi tegak lurus dan dikeringkan.

6. Tahap Staining (Pewarnaan)

Hasil potongan diwarnai dengan hematoxilin eosin (pewarnaan HE) melalui tahapan sebagai berikut :

A) Preparat direndam dalam larutan xylene I selama 10 menit.

B) Preparat diambil dari xylene I dan direndam dalam larutan xylene II selama 5 menit.

C) Preparat diambil dari xylene II dan direndam dalam ethanol absolut selama 5 menit.

D) Preparat diambil dari ethanol absolut dan direndam dalam ethanol 96 % selama 30 detik.

E) Preparat diambil dari ethanol 96% dan direndam dalam ethanol 50% selama 30 detik.

F) Preparat diambil dari ethanol 50% dan direndam dalam running tap water selama 5 menit.

G)Preparat diambil dari running tap water dan direndam dalam meyer hematoshirinselama 1-5 menit.

H) Preparat diambil dari larutan meyer dan direndam dalam running tap water selama 2-3 menit.

I) Preparat diambil dari running tap water dan direndam dalam pewarna eosin selama 1-5 menit.

J) Preparat diambil dari larutan eosin kemudian dimasukkan dalam ethanol 75 % selama 5detik, kemudian dimasukkan ke dalam ethanol absolute selama 5 detik diulang 3 kalipada ethanol absolut yang berbeda.

K) Preparat diambil dan direndam dalam xylene III selama 5 menit, kemudian dipindahkan dalam xylene IV selama 5 menit dan terahir dipindahlan ke dalam xylene V selama 10menit.

L) Preparat diangkat dan dikeringkan.

M) Preparat ditutup menggunakan deckglass.

7. Tahap Mounting (Perekatan)

8. Tahap Labelling (Pemberian Label)

Pengamatan preparat diamati dengan melalui mikroskop binokuler Nikon E 100 dengan perbesaran 400 kali.

3.6.7 Pengujian Antioksidan

3.6.7.1 Pengujian Kadar SOD (*Superoksida Dismutase*)

Aktivitas SOD dilakukan dengan cara sebagai berikut:

A. Preparasi larutan

Larutan kerja WST : dilarutkan 1 ml WST dalam 19 ml buffer

Larutan kerja enzim : disentrifuge tabung larutan enzim selama 5 detik, diambil dengan cara memipet 15 µL larutan enzim dengan 2,5 ml larutan buffer

Larutan standar SOD : dilarutkan SOD dengan buffer dengan konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 (U/ml)

B. Pelaksanaan Penentuan Kadar SOD

1. Pada standar dan sampel, diambil sebanyak 10 µl sampel atau standar, dimasukkan dalam tabung reaksi,
2. ditambahkan larutan enzim sebanyak 100 µl, kemudian kocok hingga homogen,
3. diinkubasi pada suhu 37 C selama 10 menit.
4. ditambahkan larutan kerja WST sebanyak 100 µl lalu kocok hingga homogen dan diamkan selama 10 menit, kemudian diencerkan dengan menambahkan buffer sampai 1 ml atau 2 ml sesuai kuvet yang digunakan.

5. diukur absorbansi pada 440 nm.
6. Penentuan kadar SOD dengan menggunakan persamaan standar yang diperoleh

3.6.7.2 Pengujian Kadar MDA (*Malondialdehid*)

Aktivitas MDA dilakukan dengan cara sebagai berikut:

A. Preparasi Larutan

Preparasi reagen : Ditambahkan 6 ml metanol 100% dengan 18 ml reagen R1. (Larutan ini stabil selama 2 hari jika disimpan pada suhu 4 C)

Preparasi Standar : Standar MDA disiapkan menggunakan senyawa TMOP sebab MDA tidak stabil, TMOP dihidrolisis pada inkubasi asam pada suhu 45 C untuk melepaskan MDA. TMOP standar disiapkan dengan menggunakan larutan stok 10 mM. Caranya dengan melarutkan 1 ml larutan stok dengan 500 ml aquades untuk membuat larutan 20 µM. Larutan disimpan 4 C.

Dari larutan standar diencerkan menjadi konsentrasi bertingkat mulai dari 0; 0,5; 1; 2; 3; 4 (µM)

B. Pelaksanaan Penentuan

1. ditambahkan 10 µL probucol dalam tabung reaksi
2. ditambahkan 200 µL sampel atau standar pada tabung reaksi
3. ditambahkan 640 µL reagen R1 yang telah diencerkan
4. dicampurkan dengan cara memvorteks
5. ditambahkan 150 µL R2

6. ditutup tabung reaksi dan campur dengan vorteks
7. diinkubasi pada suhu 45 C selama 60 menit
8. disentrifuge larutan untuk menghilangkan kekeruhan pada kecepatan 10000 rpm selama 10 menit. Lalu ambil supernatan
9. diamati absorbansi pada 586 nm
10. Penentuan kadar MDA sampel dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi standar yang didapat

3.7. Data dan Analisi Data

Data jumlah folikel primer, sekunder, tersier, de Graff, dan korpus luteum pada ovarium, yang telah dihitung kemudian dianalisa menggunakan uji ANOVA tunggal. Apabila $F_{hitung} > F_{tabel}$ maka dilakukan dengan uji lanjut dengan Uji Jarak Berghanda Ducan 0.05. sedangkan hasil pengujian kadar SOD (*Superoksida dismustase*) dan MDA (*Malondialdehid*) ovarium kanan, data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji *One Way Anova*. Jika $F_{hitung} > F_{tabel}$ 5%, maka H_0 ditolak. Apabila terjadi perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan taraf signifikansi 5%. Sedangkan gambaran histologis ovarium secara deskriptif disajikan dalam bentuk foto.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan Beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban) terhadap Jumlah Folikel Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).

Ovarium merupakan salah satu organ reproduksi betina yang berfungsi sebagai tempat produksi telur masak dan pembuatan hormon yang mengatur saluran reproduksi. Menurut Partodihardjo (1992), perkembangan folikel ovarium melalui beberapa tahapan yang meliputi : tahap pertama (pembentukan folikel primer), tahap kedua (pembentukan folikel sekunder), tahap ketiga (pembentukan folikel tertier) dan tahap keempat (pembentukan folikel de Graff).

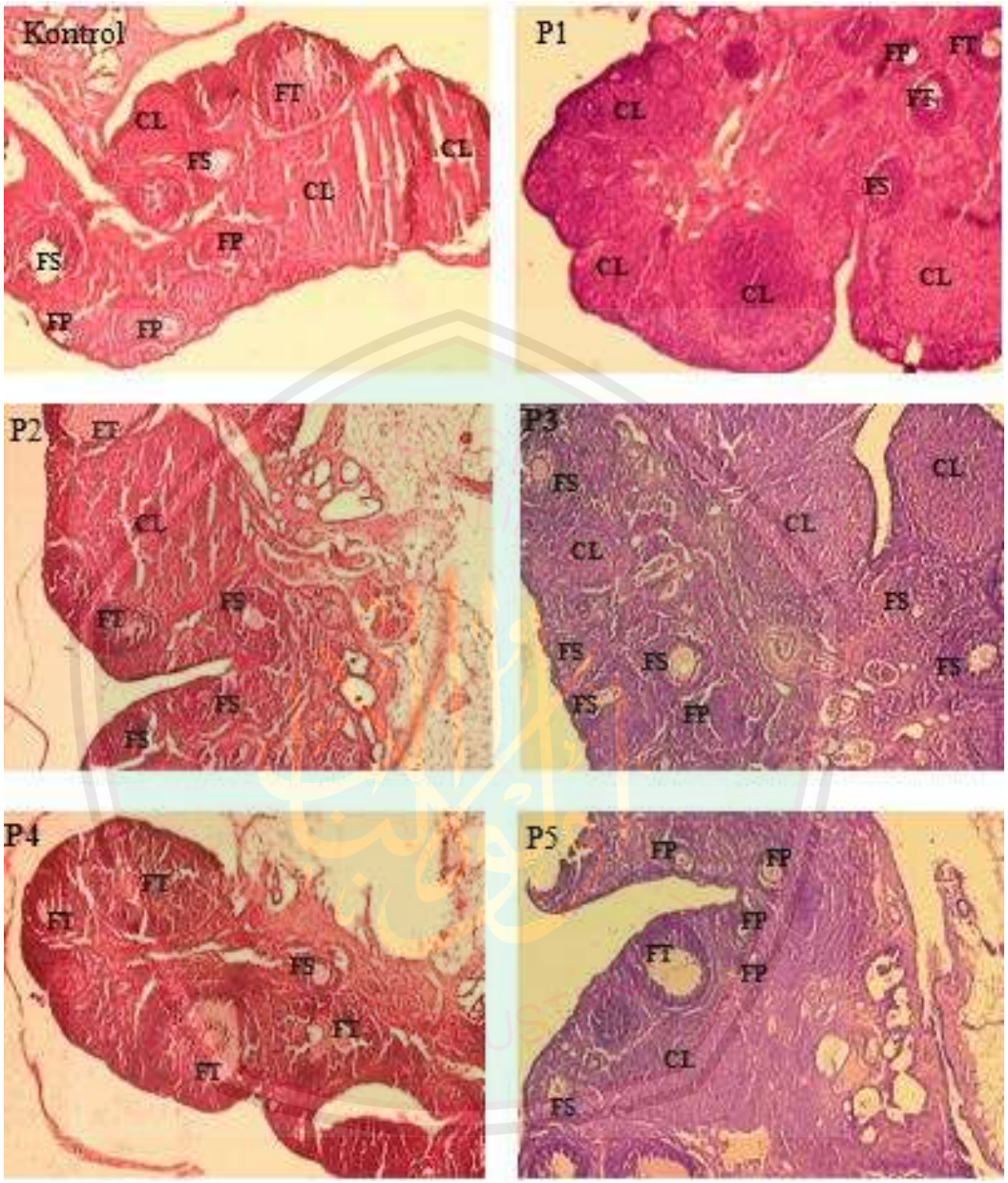
Berdasarkan hasil pengamatan ovarium tikus putih setelah perlakuan pemberian kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas selama 15 hari, dapat diamati gambaran histologi ovarium dengan pengamatan jumlah folikel primer, sekunder, tersier, de graff dan korpus luteum. Menurut Junguiera *et al*.,(1992), folikel primer ditandai dengan sel oosit mencapai diameter maksimum sekitar 125-150 μm, sel-sel folikular membentuk satu lapis sel-sel berbentuk kuboid. Sel-sel folikular berproliferasi secara mitosis membentuk epitel folikel berlapis atau membran garnulosa.

Pengamatan selanjutnya adalah pengamatan jumlah folikel sekunder yang dapat dilihat dari jumlah lapisan sel granulosa yang semakin banyak. Menurut Guerin (2002), folikel sekunder ditandai dengan pertambahan ukuran dan jumlah yang cukup

besar. Selanjutnya sel-sel folikel tersebut bersatu membentuk lapisan granulosa. Oosit primer mulai tumbuh dan memperbesar ukurannya.

Pengamatan folikel tersier/ de graff dilihat dari adanya lubang antrum pada folikelnya yang semakin membesar. Menurut Guerin (2002), folikel tersier disebut juga folikel caviti atau folikel antral, dicirikan dengan adanya caviti (antrum) dan diferensiasi teka folikuli menjadi teka interna dan teka eksterna. Menurut Partodihardjo (1980), perkembangan folikel adalah pematangan folikel tersier menjadi folikel de graff yang siap diovulasikan. Walaupun demikian beberapa pendapat cenderung untuk tidak memisahkan tahap perkembangan tersebut . Hal ini disebabkan perbedaan folikel tersier dan folikel de graaf hanya terletak pada besarnya saja.

Pengamatan folikel ovarium terakhir adalah korpus luteum. Menurut Campbell (2004), jaringan folikel yang masih tetap ada di ovarium setelah ovulasi berkembang menjadi korpus luteum, yaitu jaringan endokrin yang mensekresikan hormon betina selama fase luteal siklus ovarium. Yatim (1996), korpus luteum mengandung sel granulosa, jaringan ikat yang berasal dari teca interna, antrum dimasuki darah serta jaringan ikat. Hasil pengamatan preparat dari ovarium tikus putih dengan perlakuan kombinasi pegagan dan beluntas disajikan pada gambar 4.1 dengan perbesaran 40x pada mikroskop komputer.



Gambar 4.1. Irisan Melintang Ovarium yang (perbesaran 40x). P1) Dosis 25 mg/Kg BB, P2) Dosis 50 mg/Kg BB, P3) 75 mg/Kg BB, P4) 125 mg/Kg BB, dan P5) 200 mg/Kg BB. FP) Folikel Primer, FS) Folikel Sekunder, FT) Folikel Tersier, CL) Korpus Luteum.

Berdasarkan pengamatan folikel ovarium pada perwakilan beberapa gambar setiap perlakuan, dapat diamati bahwa setiap perlakuan ditemukannya folikel primer, sekunder, tersier dan korpus luteum. Tapi tidak ditemukannya folikel de graff walaupun pada kontrol. Diamati semua folikel dominan pada gambar pengamatan adalah folikel sekunder, tersier dan korpus luteum, sedangkan folikel primer adalah folikel yang paling jarang dijumpai pada pengamatan ini. Folikel primer dilihat dari jumlah sel granulosanya yang hanya selapis, bila diperbesar dan diamati lagi berupa sel kubus satu lapis. Sedangkan folikel sekunder diamati pada sel granulosanya yang semakin membesar atau berlapis bapis banyak. Pada folikel tersier terbentuknya lubang antrum (cavity) dan diamati pengamatan pada korpus luteum merupakan folikel yang paling besar diantara yang lain. Bersarkan hasil penelitian jumlah folikel ovarium tikus dengan pemberian kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Jumlah Folikel Ovarium dengan Pengaruh Kombinasi Pegagan dan Beluntas Selama 15 Hari

Parameter	**∑ Folikel Ovarium tiap Perlakuan**						**Jumlah**	**Rata-Rata**
	P0	**P1**	**P2**	**P3**	**P4**	**P5**		
F. Primer	3	5	19	6	9	11	53	8.833
F. Sekunder	25	21	33	19	16	32	146	24.33
F. Tersier	13	17	11	11	5	12	69	11.5
Korpus Luteum	20	22	30	15	7	14	108	18

Berdasarkan hasil pengamatan jumlah folikel ovarium dengan pengaruh pegagan dan beluntas. Dilihat pada setiap tahapannya, dari folikel primer sampai korpus luteum, terjadi peningkatan dan penurunan jumlah folikel pada tiap tahapanya. Peningkatan terjadi hanya pada folikel primer, sedangkan pada tahap folikel lainnya terjadi peningkatan dan penurunan yang tidak linier. Bila ditinjau dari jumlah folikelnya yang paling banyak adalah folikel sekunder, kemudian korpus luteum. Sedangkan perlakuan yang menunjukkan penurunan jumlah folikel pada setiap tahapnya adalah perlakuan P4 (dosis 125 mg/Kg BB), yang dimungkinkan terdapat senyawa antifertilitas. Sedangkan peningkatan jumlah folikel terjadi pada P2 (dosis 50 mg/Kg BB) dibandingkan kontrol, yang diduga bisa menyebabkan fertilitas pada betina. Diketahui salah satu tingkat kesuburan betina dapat dilihat dari ada tidaknya produksi sel telur dalam ovarium.

Data yang diperoleh dari pengamatan jumlah folikel ovarium diuji normalitasnya dengan uji normalitas Kolmogorof-Smirnov, diuji ternyata signifikansi > 0.05 (dilihat pada lampiran). Hal ini menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Kemudian diuji homogenitasnya dengan uji homogenitas levene. Setelah diuji, ternyata signifikansi > 0.05. Hal ini menunjukkan data sudah homogeni. Semua hasil uji normalitas dan homogenitas adalah signifikan pada semua folikel, kecuali pada korpus luteum yang menunjukkan nilai uji homogenitas levene. ternyata tidak signifikansi < 0.05 (0.001 < 0.05). Hal ini menunjukkan data tidak homogeni. Sehingga data perlu ditransformasikan. Diperoleh homogenitasnya dari data

transformasi dengan uji homogenitas levene. Setelah diuji, ternyata signifikansi > 0.05 (0.20 > 0.05).

Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of variance*) dengan taraf signifikansi α 5% untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak pegagan dan beluntas terhadap jumlah folikel ovarium. Ringkasan hasil ANAVA dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Ringkasan Anava 1 Jalur tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Jumlah Folikel Ovarium

Parameter	**F hitung**	**F tabel 5%**
Folikel Primer	3.173262	2.77
Folikel Sekunder	2.122614	2.77
Folikel Tersier	2.284034	2.77
Korpus Luteum	2.341000	2.77

Hasil dari perhitungan ANAVA pengaruh pemberian pegagan dan beluntas pada jumlah folikel primer menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan, karena hasil yang diperoleh menunjukkan F hitung > F tabel 5% . Sedangkan pada folikel sekunder, tersier dan korpus luteum menunjukkan F hitung < F tabel 5% artinya bahwa pemberian kombinasi pegagan dan beluntas tidak berpengaruh nyata.

Tidak adanya pengaruh dari ekstrak pegagan dan beluntas terhadap jumlah folikel sekunder, tersier dan korpus luteum dimungkinkan karena pemberian ekstrak tersebut tidak memberikan efek yang berarti terhadap jumlah folikel tersebut pada semua kelompok perlakuan dibanding kontrol. Hal ini terjadi diduga efek dari

pemberian dosis kombinasi pegagan dan beluntas yang belum sinergis terhadap perkembangan folikel sekunder, tersier dan korpus luteum. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun pegagan menunjukkan adanya senyawa alkaloid, triterpenoid dan saponin (Matsuda, *et al*.2001). Sedangkan daun beluntas memiliki senyawa bioaktif yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, minyak atsiri, asam chlorogenik, natrium, kalium, aluminium, kalsium, magnesium dan fosfor (Susetyarini, 2007).

Menurut Rusmiati (2011) golongan senyawa alkaloid, saponin, tanin dan triterpenoid bekerja berdasarkan efek sitotoksik yaitu mengganggu perkembangan sel baik sel ovum di ovarium. Menurut Suhaemi (1997), flavonoid dapat menghambat enzim aromatase yang berfungsi mengkatalis konversi androgen manjadi estrogen. Tingginya konsentrasi estrogen akan menyebabkan umpan balik negatif ke hipofisis sehingga menghambat pelepasan FSH dan LH, menghambat proses mitosis dan proses folikulogeneis dan dapat memengaruhi proses ovulasi. Hal ini belum sesuai dengan teorinya, karena pada pengamatan jumlah folikel sekunder, tersier dan korpus luteum mengalami penurunan dan peningkatan yang tidak linier, yang mengakibatkan pula hasil anava tidak signifikan (berpengaruh).

Menurut Erwinanto (2004), sel granulosa pada folikel preantral dapat menyebabkan peningkatan hormon steroid, meskipun kadar estrogen lebih banyak dari pada androgen dan progestin. sistem enzim aromatase beraksi dengan mengkonversi androgen menjadi estrogen dan nampaknya merupakan faktor yang mengatur pembentukan estrogen dari ovarium. aromatisasi ini terpacu karena FSH. Ikatan FSH dengan reseptornya serta aktivasi adenilat siklase diikuti multiplikasi

mRNA merupakan proses yang bertanggung jawab terhadap proliferasi, diferensiasi, dan fungsi sel. FSH memicu produksi estrogen dalam sel granulosa dan menstimulasi pertumbuhan sel granulosa.

Perkembangan folikel ini menunjukkan bahwa folikel primer masih memiliki hormon yang cukup untuk berkembang mencapai tahap selanjutnya dengan optimal. Menurut Guyton (1997), pertumbuhan awal dari folikel primer menjadi folikel antral (tersier) dirangsang oleh FSH sendiri. Kemudian peningkatan pertumbuhan secara besar-besaran terjadi didalam folikel antral, menuju ke arah pembentukan folikel yang lebih besar yang disebut folikel vesikuler (de graff).

FSH mempengaruhi folikel sekunder mengalami proliferasi sel granulosa dalam jumlah besar dan folikel pun menjadi tebal oleh sel granulosa. Menurut Guyton (1997), sesudah tahap awal pertumbuhan proliferasi, massa sel granulosa menyekresi cairan folikuler yang mengandung estrogen dalam konsentrasi tinggi. Pengumpulan cairan ini menyebabkan munculnya antrum di dalam massa sel granulosa. Sekali antrum sudah terbentuk, sel granulosa dan teka berproliferasi lebih cepat, laju kecepatan sekresinya meningkat, dan masing-masing folikel yang tumbuh menjadi folikel antral. Dimungkinkan semakin tebalnya sel granulosa pada folikel ovarium zat aktif pada pegagan dan beluntas belum mampu mempengaruhi perkembangan folikel sekunder ketahap labih.

Selanjutnya folikel antral berkembang menjadi folikel de Graff yang ditandai dengan bertambahnya ukuran folikel dan meningkatnya sekresi cairan folikel ke dalam antrum. Di samping itu, di sekeliling oosit telah terbentuk dua atau tiga lapis sel granulosa yang disebut kumulus ooforus yang merupakan indikator kematangan oosit dan oosit siap diovulasikan (Yen dan Jaffe, 1991). Sel-sel kumulus ini memiliki peranan yang sangat penting dalam proses pematangan oosit dan dengan tingkat ekspansinya dapat dievaluasi tingkat kematangannya. Selain itu, sel-sel kumulus juga berfungsi dalam pemasokan nutrisi bagi oosit melalui sistem gap junction (Nasich dkk., 2001).

Pengamatan ini tidak ditemukan adanya folikel de graff, tapi dilihat dari korpus luteumnya ternyata ditemukan pada semua perlakuan. Berarti dimungkinkan sebelumnya ovarium telah memilki folikel de graff. Menurut Yusuf (1990), semakin banyak korpus luteum terbentuk pada ovarium semakin tinggi tingkat keberhasilan superovulasi. Hal ini dimungkinkan dalam masa pembedahan sudah melewati tahap ovulasi. Pembedahan dilakukan pada saat tikus mengalami fase disetrus ditandai dengan sel epitel berinti, leukosit serta adanya lendir.

Menurut Austi, Short (1984) dan Bowen (1998), diestrus adalah fase dalam siklus estrus yang ditandai tidak adanya kebuntingan, tidak adanya aktivitas kelamin dan hewan menjadi tenang. Dalam permulaan fase diestrus korpus hemoragikum mengkerut karena di bawah lapisan hemoragik ini tumbuh sel-sel kuning yang disebut luteum. Menurut Hadi (2011), korpus luteum tersusun oleh sel luteal yang

merupakan sel steroidogenik sebagai hasil diferensiasi dari sel granulosa dan sel teka yang sangat responsif terhadap lingkungan hormon yang berbeda.

Berdasarkan kandungan pegagan menurut Robinson (1995), triterpenoid adalah turunan lipid yang merupakan senyawa yang dianggap berperan sebagai senyawa-antara dalam biosintesis steroid, senyawa ini harus dibuat sekurang-kurangnya dalam jumlah kecil oleh semua makhluk yang mensintesis steroid. Dalam jumlah besar zat aktif triterpenoid yang merupakan turunan lipid diduga mampu menyebabkan penghambatan pelepasan LH dan FSH. Pada dosis tinggi, zat aktif triterpenoid diduga mampu memacu terbentuknya estrogen, sehingga kadar estrogen yang tinggi dalam darah akan mempengaruhi hipotalamus untuk mengurangi pelepasan LH dan FSH. Walaupun demikian, pengaruh pegagan dan beluntas belum efektif pada penelitian ini didapatkan hasil dari analisis statistik untuk prosentase jumlah folikel sekunder, tersier, de graff dan korpus luteum tidak terdapat pengaruh nyata. Dimungkinkan pula pada penelitian ini kurang lamanya dalam pemberian perlakuan ekstrak pegagan dan beluntas, yaitu perlakuan selama 15 hari saja.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, bahan aktif pegagan menunjukkan adanya pengaruh ekstrak pegagan terhadap perkembangan folikel, jika ditinjau dari segi pengaruh dosis dapat dilihat pada penelitian Fitriyah (2009), menunjukkan adanya pengaruh yang nyata dengan pemberian ekstrak pegagan selama 30 hari dengan dosis 75 mg/kg BB meningkatkan jumlah folikel sedangkan dosis 100 mg/kg BB dan 125 mg/kg BB menurunkan jumlah folikel pada ovarium mencit (*Mus musculus*). Sedangkan pemberian ekstrak daun beluntas selama 36 hari dari penelitian

Rukmana (2010), menunjukkan adanya pengaruh penurunan jumlah sel spermatogonium, sel spermatid, dan sel leydig. Dosis ekstrak daun beluntas yang paling baik dalam menurunkan jumlah sel spermatogonium, sel sprematosit primer, sel spermatid dan sel leydig adalah 187,5 mg/kg BB.

Adanya pengaruh pada folikel primer pada uji ANAVA, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang paling berpengaruh terhadap jumlah folikel primer, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%. Berdasarkan hasil uji BNT 5% dari rata-rata jumlah folikel primer pada ovarium, maka didapatkan notasi BNT seperti pada tabel 4.3.

Tabel 4.3. Ringkasan BNT 5% tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Perkembangan Folikel Primer Ovarium

Perlakuan	**Rata-Rata Folikel Primer**	**Notasi**
P0 (Kontrol)	0.75 ± 0.15	a
P1 (25 mg/Kg BB)	1.25 ± 0.15	a
P3 (75 mg/Kg BB)	1.5 ± 0.11	a
P4 (125 mg/Kg BB)	2.25 ± 0.3	ab
P5 (200 mg/Kg BB)	2.75 ± 0.42	ab
P2(50 mg/Kg BB)	4.75 ± 0.56	b

Keterangan: Nilai BNT 5% = 2.39

Berdasarkan hasil tabel 4.2 dapat diketahui bahwa pemberian kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas pada perlakuan P2 (50 mg/kg BB) berbeda nyata dengan kontrol (P0), sedangkan P0 sama dengan dengan perlakuan P1 (25 mg/kg BB), dan perlakuan P3 (75 mg/kg BB), P4 (125 mg/kg BB), dan P5 (75 mg/kg BB) sama dengan P2 dan kontrol. Berdasarkan notasi duncan 5% dapat dilihat bahwa

dosis kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas mampu meningkatkan jumlah folikel primer ovarium terbanyak dibandingkan kontrol pada ovarium ditemukan pada perlakuan P2 (dosis 50 mg/kg BB). Dengan demikian, berdasarkan hasil anava tunggal dan BNT 5% dapat diketahui bahwa dosis yang berpengaruh untuk meningkatkan jumlah folikel primer adalah dosis 50 mg/kg BB (perlakuan P2).

Adanya pengaruh kombinasi pegagan dan beluntas terhadap jumlah folikel primer diduga karena siklus ovarium dan folikulogenesis serta keterkaitan antara hadirnya zat aktif dalam pegagan dan beluntas yang sinergis. Menurut Austin dan Short (1984), siklus ovarium dan folikulogenesis merupakan proses yang berlangsung terus-menerus sampai persediaan folikel primer habis. Tidak semua folikel primer akan mengalami pendewasaan secara lengkap, hanya sebagian kecil saja yang akan sampai pada stadium yang siap untuk diovulasikan. Sebagian besar dari folikel-folikel tersebut akan mengalami atresia sebelum benar-benar menjadi folikel yang matang.

Tahap pertama folikel berupa pembesaran sedang dari ovari itu sendiri, kemudian diikuti dengan pertumbuhan lapisan sel-sel granulosa tambahan, dan folikel menjadi apa yang disebut folikel primer. Sekurang-kurangnya beberapa perkembangan ke tahapan ini dapat terjadi walaupun tidak ada FSH dan LH, tetapi perkembangan melebihi titik ini tidak mungkin terjadi tanpa kedua hormon tersebut (Guyton, 1997).

Menurut Suhaemi (2007), bahan aktif asiatikosida dan madekossida pada pegagan merupakan bahan aktif tersebut juga mampu memperbaiki sel-sel granulosa

pada ovarium. Selain itu, menurut Pasaribu (2004), tanaman yang memiliki kandungan saponin, yang tergolong dalam steroid serta senyawa flavonoid dan tanin diberikan kepada mencit betina terbukti mampu meningkatkan kadar 17-β estradiol, memperbanyak jumlah folikel serta menambah tebal dari endometrium. Diduga dengan cara mempengaruhi sel granulosa pada folikel primer, dimana folikel primer sel granulosanya masih dalam satu lapis sel kubus sehingga mudah dalam mempengaruhi perkembangannya. Sehingga zat aktif pegagan dan beluntas pun mengenai sel targetnya yang mampu meningkatkan jumlah folikel primer dibanding kontrol perlakuan secara signifikan.

4.2. Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan Beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban) terhadap Kadar SOD (*Superoksida Dismutase*) Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).

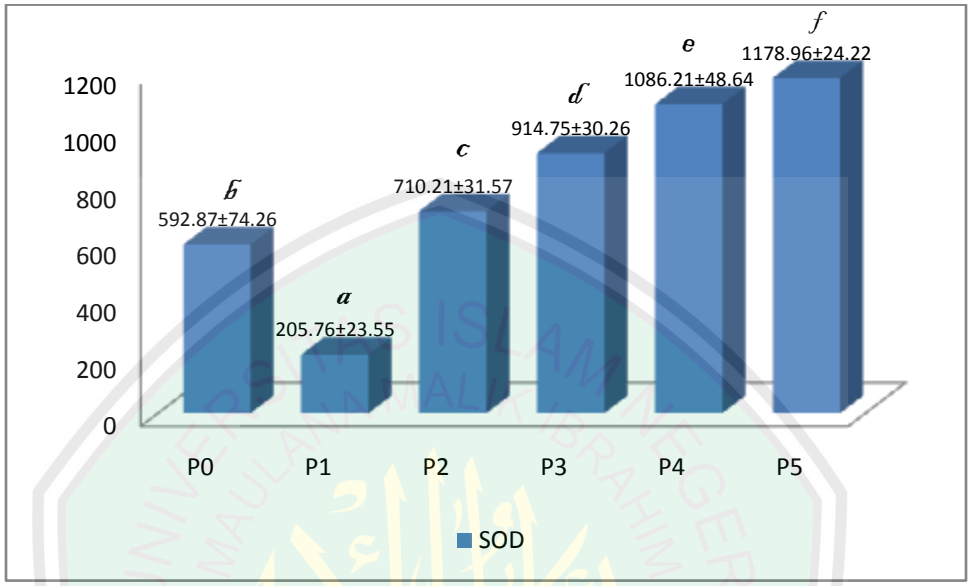
Superoksida Dismutase (SOD) merupakan salah satu enzim antioksidan seluler yang termasuk dalam antioksidan intraseluler. SOD merupakan metaloenzim yang mengkatalisis dismutase anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Analisa kadar SOD dapat dilakukan dengan xantin dan xantin oksidase sebagai penghasil superoksida, kemudian diamati menggunakan spektrofotometer (Sugito, 2012). SOD adalah salah satu indikator yang digunakan untuk mencegah pembentukan senyawa radikal atau reaksi antar senyawa radikal atau oksidan lain dengan molekul tubuh (Harjanto, 2003). SOD dalam tubuh dalam keadaan normal, maka radikal bebas dalam tubuh dalam keadaan normal pula, karena terjadi

keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh. Sedangkan bila SOD menurun atau terjadi ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas dapat mengakibatkan stres oksidatif, bila terjadi dalam jangka waktu panjang dapat mengakibatkan penyakit degeneratif.

Pengukuran kandungan enzim antioksidan SOD merupakan cara untuk mengetahui kondisi pertahanan sel terhadap radikal bebas. Aktivitas SOD bervariasi pada beberapa organ. Aktivitas SOD tertinggi terdapat pada hepar, diikuti kelenjar adrenal, ginjal, darah, limpa, pankreas, otak, paru-paru, usus, ovarium, dan timus (Halliwell & Gutteridge 1999). Metode yang digunakan pada pengukuran kadar SOD (*Superoksida Dismutase*) ini adalah dengan menggunakan metode spektrofotometri. Analisis kadar SOD dilakukan dengan menggunakan xanthin oxidase (XO) sebagai penghasil peroksida. Winarsi (2007), menyatakan bahwa aktivitas SOD dapat ditetapkan dengan beberapa cara, namun sebagian besar pengukurannya dilakukan secara tidak langsung. Salah satu cara adalah dengan menggunakan sistem yang menghasilkan superoksida dan indikator. Selanjutnya, indikator akan bereaksi dengan anion superoksida, warna yang terbentuk diukur menggunakan spektrofotometer.

Prinsip pengukuran aktivitas SOD dengan metode ini berdasarkan kemampuan enzim SOD dalam menghambat reduksi NBT oleh radikal anion superoksida. Nilai SOD dilihat dari pembentukan WST (water soluble Tetrazolium Salt) menjadi WST formazan yang berwarna kuning sampai oranye. Berdasarkan hasil penelitian, data diperoleh dari kadar SOD ovarium kiri dengan pemberian kombinasi ekstrak daun

pegagan dan beluntas dapat meningktakan kadar SOD ovarium. Sebagaimana dapat dilihat pada gambar grafik 4.1 dibawah ini:



Gambar 4.2. Nilai Rata-Rata Peningkatan Kadar SOD Ovarium Tikus Setelah Perlakuan Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas.

Data yang diperoleh uji normalitas Kolmogorov-Smirnov, setelah diuji ternyata signifikansi > 0.05 (0.849 > 0.05). Hal ini menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Kemudian diuji homogenitasnya dengan uji homogenitas levene. Setelah diuji, ternyata signifikansi > 0.05 (0.65 > 0.05). Hal ini menunjukkan data sudah homogeny. Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan ANOVA dengan taraf signifikansi 5%. Dari perhitungan tersebut, diketahui bahwa F hitung perlakuan > F tabel (281.2 > 2.77) pada taraf signifikansi 5%. Hipotesa nol (H_0) ditolak dan hipotesa 1 (H_1) diterima. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun pegagan dan beluntas dapat mempengaruhi kadar SOD pada ovarium tikus betina. Ringkasan mengenai tabel ANOVA dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4. Ringkasan Anava Jalur 1 tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Kadar SOD Ovarium

SK	Db	JK	KT	Fhit.	Ftab.
Perlakuan	5	2562853.4	512570.68	281.22259	2.77
Galat	18	2595661.1	1822.6512		
Total	23	32807.722			

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan paling berpengaruh terhadap kadar SOD ovarium, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%). Berdasarkan hasil uji BNT 5% dari rata-rata kadar SOD ovarium, maka didapatkan notasi BNT seperti pada tabel 4.5.

Tabel 4.5. Ringkasan BNT 5% tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Kadar SOD Ovarium Tikus Putih

Perlakuan	Rata-Rata Kadar SOD (U/g)	Notasi
P1 (25 mg/Kg BB)	205.76875 ± 23.55	a
P0 (kontrol)	592.87125 ± 74.26	b
P2 (50 mg/Kg BB)	710.21375 ± 31.57	c
P3(75 mg/Kg BB)	914.75725 ± 30.26	d
P4(125 mg/Kg BB)	1086.2065 ± 48.64	e
P5 (200 mg/Kg BB)	1178.968 ± 24.22	f

Keterangan: Nilai BNT 5% Kadar SOD = 63.425

Uji BNT menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang sangat nyata pada peningkatan kadar SOD ovarium tikus putih betina yang diberi ekstrak etanol daun pegagan dan beluntas. Kadar SOD semakin meningkat pada pemberian dosis semakin tinggi, perlakuan kontrol sangat berpengaruh dengan perlakuan ekstrak etanol daun pegagan dan beluntas dengan dosis yang berbeda. Perlakuan P1 (dosis 25 mg/Kg BB) mengalami penurunan dibanding dengan kontrol, sedangkan perlakuan P2 (dosis 50

mg/Kg BB), P3 (dosis 75 mg/Kg BB), P4 (dosis 125 mg/Kg BB), dan P5 (dosis 200 mg/Kg BB) mengalami peningkatan kadar SOD ovarium dibanding kontrol.

Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun pegagan dan beluntas dengan dosis yang berbeda dapat meningkatkan kadar SOD, kecuali pada pemberian dosis 25 mg/Kg BB. Penurunan pada dosis ini diduga karena adanya zat aktif yang terkandung dalam ekstrak daun pegagan dan beluntas, yang mungkin dikombinasikan dalam dosis rendah menjadi sedikit toksik dalam organ ovarium. Penelitian Adwiyah (2013), penggunaan pegagan pada dosis 125 mg/Kg BB pada mencit dapat meningkatkan kadar SOD, tapi pada dosis diatas 200 mg/Kg BB pada mencit malah menurunkan kadar SOD pada ovarium. Hal ini diduga karena sitotoksik pada pegagan dalam dosis tinggi.

Penurunan kadar SOD ovarium diduga dari zat aktif dalam pegagan yang berupa asam asiatik diduga bersifat sitotoksik bila kadarnya berlebihan dalam darah, sedangkan zat aktif lainnya maupun dalam beluntas tidak bisa menurunkan sitotoksiknya. Menurut Alaiyah (2015), Pada pemberian air perasan pegagan 8% lebih pekat menunjukkan nilai peningkatan kadar SOD sebesar 3,35 u/ml menjadi terus meningkat. Namun, tidak menunjukkan konsentrasi yang optimum, dikarenakan pemberian konsentrasi yang berlebih akan mengakibatkan adanya senyawa toksik yang mampu membentuk radikal bebas baru sehingga mekanisme kerja dari senyawa antioksidan air perasan pegagan tidak bekerja dengan baik dan bersifat toksisitas.

Peningkatan kadar SOD dibanding kontrol dimungkinkan akibat zat aktif dalam pegagan dan beluntas. Dalam pegagan terdapat triterpenoid sebagai

antioksidan yang mampu cara memodulasi enzim SOD endogen dalam menangkal senyawa radikal bebas dalam tubuh akibat stres oksidatif (Kefer, JC., dan A. S.E. Agarwal ,.2009) Triterpenoid merupakan senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan pegagan. Senyawa triterpenoid dapat larut dalam lemak sehingga dikategorikan dalam mekanisme antioksidan yang kedua yaitu antioksidan sekunder dapat memperlambat reaksi autooksidasi dengan cara mengubah radikal lipida menjadi senyawa lebih stabil sepert vitamin E dan C (Brinkhaus, B., M. Lindner, D. Schuppan dan EG. Hahn. 2000).

Mekanisme penangkapan radikal bebas oleh senyawa triterpenoid sebagai antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan. Senyawa triterpenoid mampu memodulasi enzim SOD endogen, sehingga mampu merubah ikatan senyawa yang disebabkan oleh radikal bebas menjadi ikatan yang lebih stabil (Alaiya, 2015). Selain itu, Traithip (2005) bahwa senyawa fitokimia yang terdapat pada ekstrak etanolik dan fraksi-fraksinya dari daun beluntas terdiri atas senyawa flavonoid dan polifenol.

Flavonoid ditemukan tinggi pada beluntas dibandingkan pada pegagan, menurut Dalimartha (1999), kandungan kimia daun beluntas adalah alkaloid (0,316%), minyak atsiri, tanin (2,351%) dan flavonoid (4,18%). Suarsana (2009), fungsi flavonoid secara umum dalam menetralkan radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh diduga melalui mekanisme kapasitas antioksidan dan stimulasi gen yang bertanggung jawabterhadap sintesis enzim antioksidan.

Daun beluntas memilki senyawa flavonol yaitu flavonoid yang paling efektif menangkap radikal bebas (radikal hidroksil, superoksida dan peroksil) (Tapas, 2008)

serta menghambat berbagai reaksi oksidasi (Soeksmanto, 2007), karena dapat menghasilkan radikal fenoksil yang terstabilkan oleh efek resonansi dari cincin aromatis (Yu Lin, 2009).

Pegagan dan beluntas memiliki tanin, namun tanin dalam pegagan lebih tinggi dibanding daun beluntas. Interaksi tannin dengan protein mempunyai sifat yang khas dan bergantung pada struktur tannin. Beberapa tannin terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti „reverse" transkiptase dan DNA topoisomerase (Robinson, 1995). Karena beluntas menurut Rukmiasih (2011), mengandung protein sebesar 17.78-19.02%, vitamin C sebesar 98.25 mg/100 g, dan karoten sebesar 2.55 g/100 g.

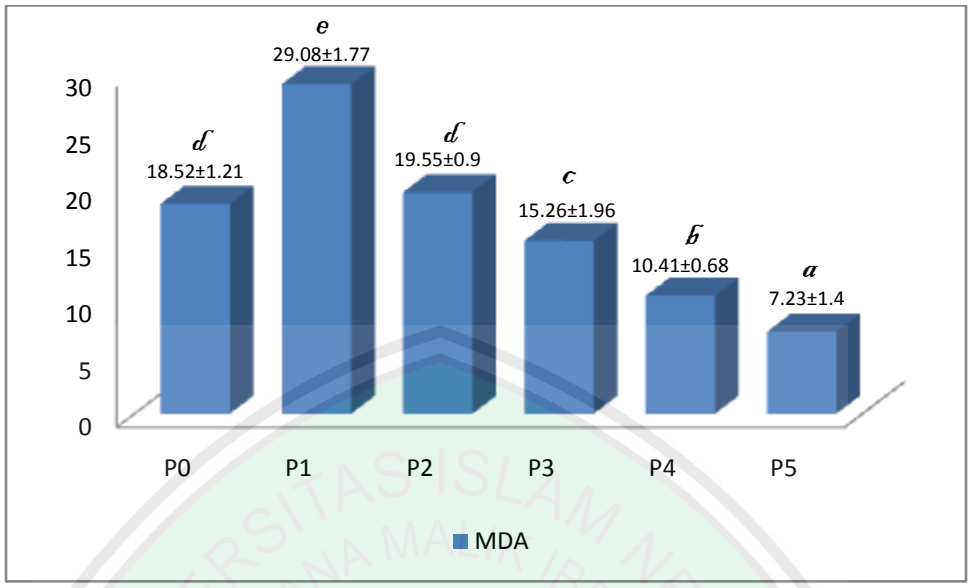
Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi.Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R*, ROO*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida, fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebihstabil (Gordon,1990).

Cara kerja senyawa antioksidan adalah bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas,

dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Utami, dkk, 2009).

4.3. Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan Beluntas (*Plucea indica.* (L) Urban) terhadap Kadar MDA (*Malondialdehid*) Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus)*.

Radikal peroksil dapat menyerang seluruh molekul hayati khususnya molekul asam lemak. Peroksidasi molekul asam lemak dapat dihentikan dengan membentuk senyawa yang stabil yakni Malondialdehide (MDA). Senyawa MDA ini dapat membentuk ikatan silang dengan berbagai molekul dan merupakan penanda toksisitas sel, mutagenesis, dan penguraian lipid pada membran sel. Antar senyawa MDA dapat berpolimerasi dan juga produk penguraian jaringan lain dengan membentuk pigmen terlarut dan terakumulasi didalam jaringan yang sudah tua (Yomes, 2006). Berdasarkan hasil penelitian, data diperoleh dari kadar MDA ovarium kiri dengan pemberian kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas dapat meningktakan kadar SOD ovarium. Sebagaimana dapat dilihat pada gambar grafik 4.2. dibawah ini:



Gambar 4.3. Nilai Rata-Rata Peningkatan Kadar MDA Ovarium Tikus Setelah Perlakuan Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas.

Data yang diperoleh uji normalitas Kolmogorov-Smirnov, setelah diuji ternyata signifikansi > 0.05 (0.762 > 0.05). Hal ini menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Kemudian diuji homogenitasnya dengan uji homogenitas levene. Setelah diuji, ternyata signifikansi > 0.05 (0.471 > 0.05). Hal ini menunjukkan data sudah homogeny. Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan ANOVA dengan taraf signifikansi 5%. Dari perhitungan tersebut, diketahui bahwa F hitung perlakuan > F tabel (119.99 > 2.77) pada taraf signifikansi 5%. Hipotesa nol (H_0) ditolak dan hipotesa 1 (H_1) diterima. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun pegagan dan beluntas dapat mempengaruhi kadar MDA pada ovarium tikus betina. Ringkasan mengenai tabel ANOVA dapat dilihat pada tabel 4.6.

Tabel 4.6. Ringkasan Anava Jalur 1 tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Kadar MDA Ovarium Tikus

SK	**Db**	**JK**	**KT**	**Fhit.**	**Ftab.**
Perlakuan	5	1183.67549	236.735098	119.991847	2.77
Galat	18	35.5126775	1.97292653		
Total	23	7897.92696			

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan paling berpengaruh terhadap kadar SOD ovarium, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%). Berdasarkan hasil uji BNT 5% dari rata-rata kadar MDA ovarium, maka didapatkan notasi BNT seperti pada tabel 4.7.

Tabel 4.7. Ringkasan BNT 5% tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas terhadap Kadar MDA Ovarium

Perlakuan	**Rata-rata Kadar MDA (nmol/gr)**	**Notasi**
P5 (200 mg/Kg BB)	7.23975 ± 1.4	a
P4 (125 mg/Kg BB)	10.418 ± 0.68	b
P3 (75 mg/Kg BB)	15.26975 ± 1.96	c
P0 (kontrol)	18.5205 ± 1.21	d
P2(50 mg/Kg BB)	19.555 ± 0.9	d
P1 (25 mg/Kg BB)	29.0875 ± 1.77	e

Keterangan: Nilai BNT 5% Kadar MDA = 2.086

Uji BNT 5% tersebut menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang sangat nyata pada tiap perlakuan, kecuali P2(50 mg/Kg BB) sama dengan kontrol. Kadar MDA semakin menurun pada pemberian dosis semakin tinggi. Pada perlakuan P1 (dosis 25 mg/Kg BB) mengalami peningkatan kadar MDA, dan berbeda nyata dengan kontrol. Hal ini diduga disebabkan karena sifat komplementer senyawa pegagan dan beluntas.

MDA merupakan senyawa toksik yang merupakan salah satu hasil akhir dari terputusnya rantai karbon asam lemak pada proses peroksidasi lipid. Lipid peroksida yang terbentuk pada proses propagasi peroksida lipid bersifat stabil, tetapi jika ada transisi metal misalnya Fe, maka subtitusi tersebut akan dikatalisa menjadi radikal peroksi (L-O*) yang pada akhirnya membentuk produk akhir yaitu malondealdehide (MDA). Kadar MDA yang terbentuk dianggap identik dengan kadar peroksidae lipid (Aylindania, 2007).

Kadar MDA yang rendah dalam tubuh, maka biasanya status antioksidan dalam tubuh pun tinggi, begitu pula antioksidan dalam tubuh rendah, maka kadar MDA pun meningkat. zat aktif yang terlibat dalam menurunnya kadar MDA dalam ovarium diduga adalah Kormin (2005), kandungan antioksidan yang tinggi dan unsur alkaloid dalam *Centella asiatica* yang berperanan untuk menghilangkan radikal bebas dapat juga menurunkan kadar MDA dalam darah. Adanya kandungan polifenol yang tinggi pada pegagan memiliki efek antiinflamasi dan antioksidan yang kuat. Ardiansyah (2003), bahwa daun beluntas mengandung senyawa fitokimia, seperti: fenol hidrokuinon, sterol dan tanin. Menurut Traithip (2005) bahwa senyawa fitokimia yang terdapat pada ekstrak etanolik daun beluntas dan fraksi-fraksinya terdiri atas senyawa flavonoid dan polifenol.

Senyawa alkaloid, saponin dan triterpenoid diduga juga memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar MDA. Menurut (Dinara dkk, 2007), senyawa alkaloid dapat bertindak sebagai penangkap radikal bebas dan dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada hepatik mikrosomal. Senyawa alkaloid, terutama indol,

memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara efisien. Senyawa radikal turunan dari senyawa amina ini memiliki tahap terminasi yang sangat lama. Senyawa alkaloid lain yang bersifat antioksidan adalah kafein yang dapat bertindak sebagai peredam radikal hidroksil.

Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid bergantung pada jumlah dan posisi dari gugus hidroksil (-OH) yang terdapat pada molekul. Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid bergantung pada jumlah dan posisi dari gugus -OH yang terdapat pada molekul. Semakin banyak gugus -OH pada flavonoid, maka aktivitas anti radikalnya semakin tinggi (Amic dkk, 2002).

Berdasarkan Nzaramba (2008), komponen fenolik merupakan terminator dari radikal bebas dan sebagai pengkelat ion logam redoks aktif. Ion logam ini memungkinkan peranannya untuk mengatalisis reaksi peroksidasi lipid. Antioksidan fenolik ini menghalangi oksidasi lipid dan molekul lain dengan cara mendonasikan atom hidrogen ke senyawa radikal membentuk intermediet radikal fenoksil. Senyawa intermediet radikal fenoksil relatif stabil sehingga tidak mampu lagi menginisiasi reaksi radikal selanjutnya. Aktivitas biologis yang tinggi pada senyawa fenolik ini terletak pada posisi dan jumlah gugus –OH.

Menurut Winarsi (2007) pada kondisi stres oksidatif, normal antara produksi radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif dengan kemampuan antioksidan alami tubuh untuk mengeliminasinya mengalami gangguan sehingga menggoyahkan rantai reduksi-oksidasi normal, sehingga menyebabkan kerusakan oksidatif jaringan. Kerusakan jaringan ini juga tergantung pada beberapa faktor, antara lain: target

molekuler, tingkat stres yang terjadi, mekanisme yang terlibat, serta waktu dan sifat alami dari sistem yang diserang.

Zat aktif dari golongan senyawa tanin, alkaloid, flavonoid, saponin juga bermanfaat sebagai antioksidan yakni senyawa pemberi elektron. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa terhambat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Winarsi, 2007).

Berdasarkan hasil anava, pada jumlah folikel ovarium tidak menunjukkan pengaruh atau perbedaan yang signifikan terhadap pengaruh pemberian ekstrak etanol daun pegagan dan beluntas, kecuali folikel primer. Dimungkinkan karena lamanya perlakuan pemberian oral ekstrak pegagan dan beluntas terhadap tikus putih betina, yaitu hanya 15 hari. Diduga pengaruh ekstrak ini masih masih belum sampai sel target folikel ovarium, atau bisa juga dilihat dari anatomi folikel primer yang masih muda dan hanya memiliki satu lapis sel granulosa. Selain itu pula pada folikel primer belum dipengaruhi (sedikit) FSH dan LH. Sehingga mengakibatkan kombinasi ekstrak daun pegagan dan beluntas ini belum berpengaruh nyata terhadap perlakuan terhadap jumlah folikel ovarium.

Berkaitan dengan jumlah folikel ovarium dan kadar SOD dan MDA dapat diketahui dari hasil penelitian ini adalah bahwa kombinasi pegagan dan beluntas tidak berpengaruh pada jumlah folikel ovarium, tapi sangat berpengaruh terhadap kadar

SOD dan MDA ovariumnya. Diketahui bahwa pegagan dalam reproduksi betina dalam kadar tinggi dapat mengakibatkan infertilitas yang dimungkinkan malalui mekanisme sitotoksik atau apoptosis sel folikel ovarium. Sedangkan peran beluntas adalah sebagai antioksidan ovarium, sehingga dalam dosis tinggi pula bisa menormalkan folikel ovarium hingga menetralkan efek dari pegagan sendiri.

4.4. Kajian Al-Quran dan As-Sunah Terkait Hasil Penelitian

Masyarakat Indonesia sudah sejak ratusan tahun lalu memiliki tradisi memanfaatkan tumbuhan dari lingkungan sekitarnya dalam pemeliharaan kesehatan ataupun pengobatan dengan memanfaatkan jamu. Masyarakat lebih memilih alternatif ini karena dianggap relatif lebih murah (dapat terjangkau oleh semua lapisan masyarakat), efisien dan lebih aman dari efek samping dibandingkan dengan obat sintetik. Obat tradisional yang banyak digunakan dapat berasal dari tumbuh-tumbuhan maupun hewan. Penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional di Indonesia telah dilakukan oleh nenek moyang kita sejak berabad-abad yang lalu. Obat tradisional yang terbuat dari suatu tanaman merupakan sumber utama yang digunakan sebagai obat-obat baru, termasuk obat reproduksi. Berbagai jenis tumbuhan liar di Indonesia dapat dimanfaatkan sebagai bahan alam untuk membuat obat kontrasepsi maupun fertilitas. Obat-obat tersebut diharapkan aman jika dikonsumsi oleh masyarakat tanpa menimbulkan efek samping yang membahayakan (Agustina, 2008).

Pada dasarnya semua penyakit berasal dari Allah, maka yang dapat menyembuhkan juga Allah semata. Akan tetapi untuk mencapai kesembuhan tersebut

tentunya dengan usaha yang maksimal. Sesungguhnya Allah mendatangkan penyakit, maka bersamaan dengan itu Allah juga mendatangkan obat. Hal ini sesuai dengan sabda Rasulullah ﷺ :

حَدَّثَنَا بِشْرُ بْنُ مُعَاذٍ الْعَقَدِيُّ حَدَّثَنَا أَبُو عَوَانَةَ عَنْ زِيَادِ بْنِ عِلَاقَةَ عَنْ أُسَامَةَ بْنِ شَرِيكٍ قَالَ قَالَتْ الْأَعْرَابُ يَا رَسُولَ اللَّهِ أَلَا نَتَدَاوَى قَالَ نَعَمْ يَا عِبَادَ اللَّهِ تَدَاوَوْا فَإِنَّ اللَّهَ لَمْ يَضَعْ دَاءً إِلَّا وَضَعَ لَهُ شِفَاءً أَوْ قَالَ دَوَاءً إِلَّا دَاءً وَاحِدًا قَالُوا يَا رَسُولَ اللَّهِ وَمَا هُوَ قَالَ الْهَرَمُ

2038. Bisyr bin Mu'adz Al Aqadi menceritakan kepada kami, Abu Awanah menceritakan kepada kami, dari Ziyad bin Ilaqah, dari Usamah bin Syarik, ia berkata, "Seorang Arab Badui berkata, 'Ya Rasulullah, tidakkah kita (harus) berobat? Rasulullah SAW menjawab, *'Ya wahai hamba Allah, berobatlah kalian. (Sebab), sesungguhnya Allah tidak menciptakan suatu penyakit, kecuali Ia pun menciptakan penyembuh(nya) -atau ia mengatakan obat (nya), kecuali satu penyakit.'* Para sahabat bertanya, 'Ya Rasulullah, penyakit apakah itu?' Rasulullah ﷺ menjawab, Tua'." ***Shahih: Ibnu Majah* (3436).**

Pegagan dan beluntas merupakan tanaman yang dapat digunakan sebagai tanaman obat tradisional. Dewasa ini tanaman pegagan banyak dimanfaatkan karena kandungan zat aktif dalam daun pegagan, begitu pula pada daun beluntas. Dalam penelitian ini mencoba mengkombinasikan daun pegagan dan beluntas sebagai terapi kesehatan reproduksi. Penelitian Sa’roni (2012), tanaman pegagan dan beluntas sebelumnya juga sudah dibuat ramuan jamu tradisonal untuk kesuburan di Sumatera Barat dengan cara direbus biasa. Keberadaan zat aktif dalam kedua tanaman tersebut sangatlah bermanfaat hingga diwariskan turun temurun oleh masyarakat

Berdasarkan hasil penelitian disini digunakan memanfaatkan tanaman sebagai obat. Pegagan dan beluntas merupakan tanaman yang dapat digunakan sebagai tanaman obat tradisional. Dewasa ini tanaman pegagan banyak dimanfaatkan karena kandungan zat aktif dalam daun pegagan, begitu pula pada daun beluntas. Pemanfaatan tanaman ini, sesuai dengan firman Allah ﷻ dalam Al-Qur'an:

أَوَلَمْ يَرَوْا۟ إِلَى ٱلْأَرْضِ كَمْ أَنۢبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧

"Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?".(Surat Asy-Syu'araa: 26: 7).

Menurut tafsir Al-Mishbah (2002), ayat diatas dijelaskan kata *Zauj* berarti *pasangan.* Pasangan yang dimaksud ayat ini adalah pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuh-tumbuhan itu muncul dicelah-celah tanah yang terhampar dibumi, dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan pun memiliiki pasangan-pasangan guna pertumbuhan dan perkembangannya. Ada tumbuhan yang memiiliki benang sari dan putik sehingga menyatu dalam diri pasangannya dan dalam penyerbukannya ia tidak membutuhkan pejantan dari bunga yang lain,dan ada juga yang hanya memiliki salah satunya saja sehingga membutuhkan pasangannya.

Sungguh semua ini menjadikan pelajaran berharga jika kita senantiasa berfikir akan tanda-tanda kebesasaran Allah. Sebagaimana ayat yang dijadikan pedoman UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yaitu konsep ayat *"Ulul Albab"* Allah berfirman dalam surat Ali-Imran : 190-191

إِنَّ فِي خَلْقِ ٱلسَّمَٰوَٰتِ وَٱلْأَرْضِ وَٱخْتِلَٰفِ ٱلَّيْلِ وَٱلنَّهَارِ لَءَايَٰتٍ لِّأُو۟لِى ٱلْأَلْبَٰبِ ﴿١٩٠﴾
ٱلَّذِينَ يَذْكُرُونَ ٱللَّهَ قِيَٰمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ ٱلسَّمَٰوَٰتِ
وَٱلْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَٰذَا بَٰطِلًا سُبْحَٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ ٱلنَّارِ ﴿١٩١﴾

"Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (190) (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" (191).

Menurut kitab Ibnu Katsir (1999), bahwa "Allah memuji hamba-hamba-Nya yang beriman, yang mengingat Allah ketika duduk, berdiri dan berbaring. Mereka merenungkan penciptaan langit dan bumi" sambil berkata, "Ya Tuhan kami, tidakkah Engkau ciptakan ini dengan sia-sia." Yakni, tidakkah engkau menciptakan makhluk ini dengan main-main, namun secara hak agar Engkau membalas orang-orang yang beramal buruk sesuai dengan apa yang mereka lakukan, serta membalas orang-orang yang berbuat baik dengan balasan kebaikan. Kemudian mereka mensucikan Allah dari sifat main-main. Mereka berkata, "Maha Suci Engkau" dari perbuatan menciptakan sesuatu kecuali dengan hak dan adil. Wahai Zat yang Dia itu disucikan dari segala sifat kekurangan, kecacatan dan main-main.

Hasil penelitian ini diketahui bahwa pegagan dan beluntas dalam dosis tertentu dapat menyuburkan atau dapat digunakan sebagai kontrasepsi. Berdasarkan jumlah penurunan dan peningkatan ovarium dapat digunakan sebagia acuan sebagai penyubur atau kontrasepsi. Penggunaan dosis optimal, pada dosis 125 mg/Kg BB

dapat digunakan sebagai kontrasepsi, sedangkan pada dosis 50 mg/Kg BB dapat digunakan sebagai penyubur. Sehingga dalam penggunaannya pun harus sesuai dengan kebutuhan. Selain itu, pegagan dan beluntas dapat meningkatkan antioksidan dalam tubuh, dengan menangkal radikal bebas yang berlebih dalam tubuh. Hal memberikan pelajaran penting tentang konsep penggunaan obat. Setiap obat selalu memiliki aturan dosis tertentu dalam penggunaannya agar dapat membantu dalam penyembuhan agar tidak malah menjadi racun dalam tubuh. Maha Besar Allah telah menciptkan semua dengan ukurannya, sabagimana dapat kita kaji dalam surat Al Qomar ayat 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَٰهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya *: Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.*

Berdasarkan ayat ini, bahwa penggunaan dosis dalam pegobatan haruslah sesuai dengan ukuran dan kebutuhan. Karena berdasarkan hasil penelitian ini dapat digunakna sebagai obat penyubur atau kontrasepsi. Bila dikaitkan dengan dunia pengobatan medis, pada dasarnya semua penyakit (masalah reproduksi) berasal dari Allah, maka yang dapat menyembuhkan juga Allah semata. Akan tetapi untuk mencapai kesembuhan tersebut tentunya dengan usaha yang maksimal. Firman Allah ﷻ dalam surah Ar-Ra'd: 11:

.....إِنَّ ٱللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوۡمٍ حَتَّىٰ يُغَيِّرُواْ مَا بِأَنفُسِهِمۡۗ وَإِذَآ أَرَادَ ٱللَّهُ بِقَوۡمٖ سُوٓءٗا فَلَا مَرَدَّ لَهُۥۚ وَمَا لَهُم مِّن دُونِهِۦ مِن وَالٖ ١١

Artinya: *"Sesungguhnya Allah tidak merobah Keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merobah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri. dan apabila Allah menghendaki keburukan terhadap sesuatu kaum, Maka tak ada yang dapat menolaknya; dan sekali-kali tak ada pelindung bagi mereka selain Dia. Bagi tiap-tiap manusia ada beberapa Malaikat yang tetap menjaganya secara bergiliran dan ada pula beberapa Malaikat yang mencatat amalan-amalannya. dan yang dikehendaki dalam ayat ini ialah Malaikat yang menjaga secara bergiliran itu, disebut Malaikat Hafazhah. Tuhan tidak akan merobah Keadaan mereka, selama mereka tidak merobah sebab-sebab kemunduran mereka".*

Menurut Tafsir Al-Qur'anul Majid (2000), menjelaskan ayat tersebut, sesungguhnya Allah tidak akan mengubah nikmat dan afiat yang telah diberikan kepada suatu kaum atau dihilangkan dari mereka, kecuali kaum itu mengubah keadaan dirinya sendiri yang baik diganti dengan yang buruk dan satu sama lain diantar mereka saling menganiaya. Jika mereka telah meninggalkan kebajikan dan amalan pun diubah dari keadaan merdeka menjadi terjajah. Apabila Allah berkehendak menimpahkan azab kepada suatu kaum, baik azab berupa penjajahan, penyakit atau kemiskinan yang disebabkan oleh keburukan amalan mereka, maka sesungguhnya tidak ada yang dapat menolak siksa Allah itu. Ayat ini memberi pengertian, sepantasnya mereka tidak meminta supaya dipercepat azabnya, karena semuanya tergantung pada penetapan Allah. Tidak ada selain Allah yang mengendalikan urusan mereka, tidak pula mampu mendatangkan kemanfaatan atau menolak suatu kemudzaratan.

Nikmat pada penafsiran diatas, dapat dikatakan nikmat berupa kesehatan. Semua usaha manusia atas penyembuhan semua penyakit itu karena izin Allah ﷻ Sabda Rosullulah ﷺ

عَنْ جَابِرٍ عَنْ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

1473- Dari Jabir رضي الله عنه, dari Rasulullah ﷺ bahwasanya beliau bersabda, *"Setiap penyakit pasti ada obatnya. Apabila ditemukan obat yang tepat untuk suatu penyakit, maka sembuhlah penyakit itu dengan izin Allah Azza wa Jalla"* **{Muslim 7/21}.**

Berdasarkan hasil penelitian ini, kombinasi pegagan dan beluntas tidak terdapat adanya pengaruh nyata dibanding kontrol. Sedangkan dosis optimal kadar SOD dan MDA adalah dosis 200 mg/Kg BB. Tapi dalam pemakaian dosis pengobatan menggunakan pegagan dan beluntas terhadap sistem reproduksi belum final. Firman Allah ﷻ surat Al-An'am:59

وَعِنْدَهُ مَفَاتِحُ الْغَيْبِ لا يَعْلَمُهَا إِلا هُوَ وَيَعْلَمُ مَا فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ وَمَا تَسْقُطُ مِنْ وَرَقَةٍ إِلا يَعْلَمُهَا وَلا حَبَّةٍ فِي ظُلُمَاتِ الأَرْضِ وَلا رَطْبٍ وَلا يَابِسٍ إِلا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ

"Dan pada sisi Allah-lah kunci-kunci semua yang gaib; tak ada yang mengetahuinya kecuali Dia sendiri, dan Dia mengetahui apa yang di daratan dan di lautan, dan tiada sehelai daun pun yang gugur melainkan Dia mengetahuinya (pula), dan tidak jatuh sebutir biji pun dalam kegelapan bumi dan tidak sesuatu yang basah atau yang kering, melainkan tertulis dalam kitab yang nyata (Lohmahfuz)"

Menurut Tafsir Jalalain (2010), (Dan pada sisi Allahlah) Yang Maha Luhur (kunci-kunci semua yang gaib) simpanan-simpanan ilmu gaib atau jalan-jalan yang mengantarkan kepada pengetahuan tentangnya (tak ada yang mengetahuinya kecuali

Dia sendiri) ilmu tentang kegaiban itu ada lima macam; mengenai penjelasannya telah dikemukakan dalam surah Luqman ayat 34, yaitu firman-Nya, "Sesungguhnya Allah hanya pada sisi-Nya sajalah pengetahuan tentang hari kiamat... sampai akhir ayat." Demikianlah menurut riwayat Imam Bukhari (dan Dia mengetahui apa) yang terjadi (di daratan) permukaan bumi (dan di lautan) perkampungan-perkampungan yang ada di atas sungai-sungai (dan tiada sehelai daun pun yang gugur) huruf min adalah zaidah/ tambahan (melainkan Dia mengetahuinya pula, dan tidak jatuh sebutir biji pun dalam kegelapan bumi dan tidak sesuatu yang basah atau yang kering) diathafkan kepada Lafal waraqatin (melainkan tertulis dalam kitab yang nyata) yakni Lohmahfuz. Al-Istitsna/pengecualian berkedudukan sebagai badal isytimal dari istitsna yang sebelumnya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulakna bahwa:

1. Ada pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Plucea indica* (L) Urban) terhadap jumlah folikel primer. Tapi tidak ada pengaruh terhadap jumlah folikel sekunder, tersier, de graff dan korpus luteum.
2. Ada pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dan beluntas (*Plucea indica* (L) Urban) terhadap kadar SOD dan MDA ovarium, dengan meningkatnya SOD (*Superoksidase dismutase*) dan turunnya kadar MDA (*Melondialdehida*). Dosis yang paling optimal adalah dosis 200 mg/Kg BB.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, maka disarankan dilanjutkan penelitian dengan jangka waktu lebih dari 3 siklus, dimungkinkan dapat berpengaruh terhadap perkembangan folikel ovarium. Begitu pula pada kadar SOD dan MDA ovarium bila perlakuan ini dalam jangka waktu lama, guna mengetahui efek toksisitasnya. Selain itu perlu dilakukan uji fitokimia terhadap kombinasi pegagan dan beluntas.

DAFTAR PUSTAKA

Adwiyah, Robistul. 2013. Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella aisatica*) Terhadap Kadar SOD & GSH pada Ovarium Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi*. UIN Maliki Malang.

Agarwal, A., Gupta, S., and Sharma,R.K. 2005. Role of Oxidative Stress in Female Reproduction. *Reprod. Biol. Endocrinol*. 3: 38

Agusta, Andria. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia* Bandung : ITB Press.

Agustina, Icha dan Hendri Busman. 2008. Struktur Histologi Folikel Primer, Sekunder dan Tersier Ovarium Mencit (*Mus musculus*) Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.). *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi II*. Lampung: Universitas Lampung.

Alaiya, Sholikhatul., dkk. 2015. Peran Air Perasan Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap Superoxide dismutase (SOD) pada Tikus. *e-Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*. Volume: 1/ No.: 1/ Halaman 35 - 45 ISSN : _____(e) - 2338-2805(p)

Algameta, D.E. 2009. Uji Aktivitas Antioksidan Tablet Effervescent Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) Dan Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Pada Tikus Yang Dibebani Glukosa. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta 1-2

Al-Maraghi, Ahmad Musthafa. 1987. *Terjemah Tafsir Al-Maraghi 16*. Semarang: Thohaputra.

Al-Maraghi, Ahmad Musthafa. 1987. *Terjemah Tafsir Al-Maraghi 19.* Semarang: Thohaputra

Amic, D., Beslo, D., Trinajstic, N.,& 3. Davidovic. (2002). Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatia Chemica Acta*, 6(1), 55-61.

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.* Prorgram Studi Illmu Biomedik.

Ardiansyah. 2005. Daun *beluntas sebagai bahan antibakteri dan antioksidan*. Artikel IPTEK-Bidang Biologi, Pangan dan Kesehatan

Ar-Rifa'I, Muhammad Nasib. 1999. *Kemudahan dari Allah: Ringkasan Ibnu Katsir*. Penerjemah, Syihabuddin. Jakarta: Gema Insani Press.

Ash-Shiddieqy, Muhammad Hasbi Teungku. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur*. Semarang: Pustaka Rizki Putra.

Aspan, Ruslan, Sherley dan Bambang Dwiyatmoko.2010. Serial Data Ilmiah Terkini Tumbuhan Obat Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban. Direktorat Obat Asli Indonesia Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. 2010.

Asy-Syuthi, Jalaluddin dan Jalaluddin Muhammad Ibn Ahmad Al-Mahally. 2010. *Tafsir Jalalain.* Tasikmalaya: Pesantren Persatuan Islam 91 Tasikmalaya.

Austin, C.R. and Short, R.V. 1984. *Hormonal Control of Reproduction*. Cambridge: Cambridge University Press.

Aylindania, N. 2007. Pengaruh Pemberian Teh Hijau (Camellia sinensis) terhadap Aktivitas Radikal Bebas pada Hepar Mencit (Mus musculus) Diabetes. *Skripsi*. Malang: UIN.

Balasubramaniam, B., 2010. USU Repository , Prevalensi Kanker Payudara Pada Wanita Di RSUP H. Adam Malik Pada Tahun 2009.

Besung, Kerta nengah I. 2009. Pegagan (*Centella aisatica*) Sebagai Alternative Pencegahan Infeksi Pada Ternak. *Jurnal Penelitian* vol.2. no 1 26 agustus 2009. Bali : Universitas Udayana.

Bevelander, Gerrit dan Judith A. Ramaley. 1988. *Dasar-dasar Histologi Edisi Kedelapan*. Alih bahasa : Wisnu Gunarso. Bogor : IPB

Biren S., Nayak BS, dkk. 2007. Search for Medicinal Plants as Aorce of Antiinflamatory and Anti-Arthitic, Agents-A Review. *Pharmacognozy Magazine*. Volume 6 : 77-86.

Bonte *et al*. 1995. Comparative Activity of Asiaticoside and Madecassoside on Type I and III Colagen Synthesis by Cultured Human Fibroblast. *Dalam abstrak jurnal penelitian NCBI*

Brinkhaus, B., M. Lindner, D. Schuppan and EG. Hahn. 2000 Chemical,pharmacological and clinical profile of the east asian medicinal plant Centella asiatica, *Phytomedicine*. 7(5): 427-448.

Campbell, Neil A. dan Reece Jane. 2004. *Biologi.* Jakarta: Erlangga

Campbell, Neil A. dan Reece Jane. 2010. *Biologi Edisi Ketiga Jilid 3*. Jakarta: Erlangga.

Caramori, G. and A. Papi. 2004. *Oxidants and Asthma*. Thorax Vol 59 (2): 170-173.

Dalimartha S. 1999. *1001 Resep Herbal*. Jakarta: Penebar Swadaya.

De Padua, L.S., N. Bunyapraphatsara, and R.H.M.J. Lemmens, (Eds.), 1999, *Plant Resources of South East Asia* no. 12(1). *Medicinal and Poisonous plants* 1. PROSEA Foundation, Bogor, Indonesia, 185-190

Deshpande, S.S, U.S. Deshpande , & D.K Salunkhe. 1996. *Nutritional and Health Aspect of Food Antioxidant.* Di dalam : Deshpande, S.S, DL. Madhavi, & D.K Salunkhe. Food Antioxidant Technological, Toxological and Health Property. Marcell Dekker Inc. New York.

Dinara, J.M., Marc, F.R., Jane, M.B., Joa˜o, 8. A.P.A.H., &Jenifer, S. (2007). Antioxidant Properties of β-Carboline Alkaloids are Related to Their Antimutagenic and Antigenotoxic Activities. *Mutagenesis*, 22(4), 293-302.

Droge W. 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function, *Physiological Reviews.* Vol 82, No 1 pp 47-95.

Elyal, Berna dan Dadang Kusmana. 2002. Pengaruh Infus Daun Puding (*Polyscias guilfoylei* L.H. Bailey) Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur DDY. *Jurnal makara, sains*. 6 (2): 99-104.

Erwinanto, 2004. Hubungan Pertumbuhan Folikel, Kadar Estradiol, dan Ketebalan Endometrium Hasil Induksi Ovulasi dalam Proses Fertilisasi In Vitro. *Tesis.* Program Pendidikan Dokter Spesialis 1 Obsterti Ginekologi: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

Fitriyah. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiantica)* terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi* Tidak Diterbitkan. UIN Maliki Malang.

Ganong, F William. 1983. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Alih Bahasa M. Djauhari Widjajakusumah dkk. Jakarta: EGC

Geneser, Finn.1994 . *Buku Teks Histologi- Jilid 2*. Jakarta: Binarupa Aksara,

Gordon, M.H 1990. *The Mechanism of Antioxidants Action In Vitro*. Di dalam: B.J.F. Hudson, editor. Food Antioxidants. Elsivier Applied Science, London.

Guerin J.P. 2002. *Malaria: Current Status of Control, Diagnosis, Treatment, and a Proposed Agenda For Research and Development*. The Lancet Infectious Diseases, Volume 2. Issue . p564-573

Gupta, Y.K. dan M.H.V. Kumar. 2003. Effect of *Centella asiatica* on Cognition and Oxidative Stress in an Intracerebroventricular Sterptozotocin Model of Alzheimer's Disease in Rats, Clin Exp. Pharmacol. Physiol, 30 : 336-342.

Guyton, A.C. dan Hall, J.E. 2003. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

Hadi, Restu Syamsul. 2011. Mekanisme Apoptosis Pada Regresi Sel Luteal. *Majalah Kesehatan PharmaMedika,*. Vol,3, No,1

Hafez ESE, Jainudeen MR, dan Rosnina Y. 2000. *Hormones Growth Factors and Reproduction.* Di dalam : Reproduction in Farm Animals. Ed ke-3. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.

Hafez. 1993. *Reproduction in Farm Animal 6th Edition*. Philadelphia : LEA & FEBIGER

Haffner, Linda J. dan Danny j Schust. 2008. *Sistem Reproduksi Edisi Kedua*. Jakarta: Erlangga.

Haliwell B, and Gutteridge JMC. 1999. *Free Radical in Biology and Medicine*. Oxford University Press. Ed 3. hlm 105- 220.

Halliwell B. 2006. *Reactive spesies and antioxidants*: Redox biology is a fudamental theme of aerobic life. Plant Physiol. 141:312-322.

Handajanto, O. 2010. *My Healthy Life*. Jakarta: Gramedia

Handayani dan Maryani. 2005. *Mengatasi Penyakit pada Anak dengan Ramuan Tradisional.* Jakarta

Harkness, J.E. and J.E. Wagner. 1989. *The Biology and Medicine of Rabbit and Rodent*. Lea and Febiger, Philadelphia.

Harrison R.M, Phillippi P.P, Swan K.F, dan Henson M.C. 1999. Effect of genistein on steroid hormon production in the pregnant rhesus monkey. *Society for Experimental Biology and Medicine*, vol. 222.

Hashim, P. 2011. MiniReview *Centella asiatica* in Food and Beverage Applications and Its Potential Antioxidant and Neuroprotective effect. International Food Research Journal, 18(4): 1215-1222. Hedrich HJ. 2006. Taxonomy and stock and strains. *J Lab Rat* 71-92

Hendri, Iam. 2007. Hati –Hati dengan Kontrasepsi Oral. *http://www.liveconnector.com/hom/php.* Diakses: 14 Januari 2015.

Hendromartono S. 2000. Peran radikal bebas terhadap komplikasi vaskuler. *Majalah Penyakit Dalam Udayana.* 1:89-92.

Herdiningrat, S. 2002. Efek Pemberian Infusa Buah Manggis Muda (*Garcinia Mangostana* Linn) Terhadap Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*). *Majalah Andrologi Indonesia.* 10 (4): 130.

Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia.* Jilid I. Jakarta : Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Departemen Kehutanan. hal.586.

James, Jacinda T. and Ian A. Dubery. 2009. Pentacyclic Triterpenoids from the Medicinal Herb, *Centella asiatica* (L.) Urban. *Review Molecules*.14: 3922-3941

Jamil, S.S., Qudsia, N. and Mehboobus, S. 2007. *Centella asiatica* (Linn.) Urban A Review. *Natural Product Radiance.* 6 (2): 158-170.

Jujena, P., S. M.K.Gill., S. Dsolisa., V. Padwai., N. Balasimor., M. Aleem, and Zool. 2001. Anti Fertility Effect Estradiol in Adult Female Rat. *J. Endokrinol. Invest* 249(8): 598-607.

Junqueira, L.C. and Carneiro, J. 1992. *Histologi Dasar Teks & Atlas*. Alih Bahasa: Jan Tambayong. Editor: Frans Dany. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Katzung, B.G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi II*. Jakarta: Salemba Medika.

Kefer, JC., and A. S.E. Agarwal ,.2009. ole of antioxidants in the treatment of male infertility. *Inernational Journal of Urology* 16: 449 – 57.

Kormin, S. 2005. The effect of Heat Processing on Triterpene Glycosides and Antioxidant Activity of Herbal Pegaga (*Centella Asiatica* L. Urban) Drink. (*Tesis*). Kuala Lumpur : Universiti Teknologi Malaysia.

Kristanti, Ari Nur . 2010. Potensi Ekstrak Daun Pegagan (*Centella Asiatica* (L.) Urban) Dosis Tinggi Sebagai Antifertilitas Pada Mencit (*Mus Musculus*) Betina. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Larasati, Widya. 2013. Uji Antifertilitas Ekstrak Etil Asetat Biji Jarak Pagar (*Jatropha curca* L.) Pada Tikus Putih (*Ratus nurwegicus*) Jantan Galur Sprague Dawley Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.

Lasmadiwati, Endah. 2004. *Pegagan : Meningkatkan Daya Ingat, Membuat Awet Muda, Menurunkan Gejala Stress dan Meningkatkan Stamina*. Jakarta : Penebar Swadaya.

Leeson, C.R., Leeson T.S. and Paparo, A.A. 1996. *Buku Ajar Histologi. Edisi 5*. Alih Bahasa: Jan Tambayong. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Limbong, Theresia. 2007. Pengaruh Ekstrak Ethanol Kulit Batang Pakettu (*Ficus superba* Miq) Terhadap Folikulogenesis Ovarium Mencit (*Mus musculus*). *Dalam abstrak jurnal penelitian*. Surabaya : Universitas Airlangga

Malole, M. B. M. dan C. S. Pramono. 1989. *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan Laboratorium*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Margaill, I. 2005. Antioxidant Strategies in The Treament of Stroke. *Free Rad. Biol. Med*. 39 (04): 365-379.

Marto, Patricia Gonce. 2003. *Panduan Pemerikasaan Kesehatan*. Alih bahasa Sari Kurnianingsih, S.Kp. Jakarta: EGC.

Matsuda, H., Morikawa, T., Ueda, H. and Yoshikawa, M. 2001. Medicinal Foodstuffs. XXVII. Saponin constituents of Gotu Kola (2): Structures of new Ursane- And Olemane-Type Triterpene Oligoglycosides, Centellasaponins B, C, and D, from *Centella asiatica* cultivated in Sri Lanka, *Chem Pharm Bull* (Tokyo). 49 (10):1368-1371.

Mc.Kee, T., Mc Kee, J.R. 2003. *Aerobic Metabolism II: Electron Transport and Oxidative Phosphorilation In: Biochemistry the Moleculer Basis of Life.* 3td ed. McGraw-Hill, NY 10020. 319-326.

Mora, 2012. Analisis Perencanaan Sistem Transportasi Ramah Lingkungan dan Terintegrasi untuk Mewujudkan Kampus Educopolis di Lingkungan Kampus UGM. *Tugas Akhir* .Teknik Sipil dan Lingkungan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta: Tidak Dipublikasikan.

Nabet, F.B. 1996. Zat gizi antioksidan penangkal senyawa radikal pangan dalam sistem biologis. Di dalam Zakaria, F.R., R. Dewanti, dan S. Yasni (Ed..) : Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan :Reaksi Biomolekuler, Dampak terhadap Kesehatan dan Panangkalan. Kerjasama Pusat Studi Pangan dan Gizi IPB dengan Kedutaan Perancis, Jakarta.

Najamudin. 2010. Penentuan Siklus Estrus pada Kancil (Tragulus javanicus) Berdasarkan Perubahan Sitologi Vagina. *Jurnal Veteriner*. Vol. 11 No. 2.ISSN : 1411 – 8327

Nalley e*t al.,* 2011. Penentuan Siklus Estrus Berdasarkan Gambaran Sitologi Vagina dan Profil Hormon pada Rusa Timor. *Jurnal Veteriner*. Vol. 12 No. 2: 98-106 ISSN : 1411 - 8327

Noridayu, A.R. Hii, Yf., Faridah and Lajis ,N. 2011. Antioxidant and Antocholinesterase activities of *Pluchea Indica* L. *International Food Research Journal* 18 (3): 925-920

Nosich,R.M. 2001. *Learning to Things Through: A Guide to Critical Thinking in The Curriculum*. New Jersey: Prentice-Hall.Inc.

Nzaramba, M.N. (2008). Relationships 17. Among Antioxidants, Phenolics, and Specific Gravity in Potato Cultivars, and Evaluation of Wild Potato Species for Antioxidants, Glycoalkaloids, and Anti-Cancer Activity on Human Prostate and Colon Cancer CellsIn Vitro. *Disertasi.* Texas A&M University.

Partodihardjo, Soedadi. 1992. Ilmu Reproduksi Hewan. Jakarta: Mutiara Sumber Widya.

Pasaribu, N., 2004. *Minyak Buah dan Kelapa Sawit*. FMIPA USU Press, Medan.

Pujowati, Penny. 2006. Tanaman dan Sistem Terbuka Hijau Pengenalan Ragam Tanaman Lanskap. *Laporan Praktikum* Tidak Diterbitkan. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana Departemen Arsitektur Lanskap FT IPB.

Randriamampionona, D., Diallo, B., Rakotoniriana,F.,Rabemanantsoa, C., Cheuk, K., Corbisier, A.M., Mahillon, J., Ratsimamanga, S., El Jaziri M. 2007. Comparative analysis of active constituents in *Centella asiatica* samples from Madagascar: application for ex situ conservation and clonal propagation. *Fitoterapia*. 7-8: 482-489.

Rivaldi, D. 2011. Pangaruh Pemberian Extract Daun Pegangan (*Centella asiatika*) Terhadap Kadar Fosfor Dalam Darah Pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Ovarektomi. *Artikel Ilmiah*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.

Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB, Bandung.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.

Rukmana, Rizal Maarif. 2010. Pengaruh Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea Indica* Less) Terhadap Proses Spermatogenesis Pada Mencit (*Mus musculus* L). *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Rukmiasih. (2011). Penurunan Bau Amis *OFF-odor*) Daging Itik Lokal dengan Pemberian Daun Beluntas (*Plucea indica* L) dalam Pakan dan Dampaknya terhadap Performa [*Disertasi*]. IPB. Bogor

Saleh, R.A. and A. Agarwal. 2002. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *J. Androl.* 23(6):.737-752.

Sa'roni dan Yun Astiti Nugroho. 2012. Ramuan Obat Tradisional Di Sumatera Barat dan Nusa Tenggara Barat untuk Keluhan Pada Sistem Reproduksi. *Artikel Media Litbang Kesehatan.* Vol.22 No.3

Sarwono, Sarlito Wirawan. 1999. *Psikologi Kelompok dan Psikologi Terapan* . Jakarta : Raja Grafindo Pustaka. Setiawan. 1999.

Sathya dan Uthaya Ganga. 2008. Therapeutic Uses of *Centella asiatica* (*Hydrocotyle asiatica*). India : Govt. Siddha Medical College

Savitri, Evika Sandi. 2006. Studi Morfologi Tumbuhan Gulma yang Berpotensi sebagai Obat di Lingkungan UIN Malang. *Jurnal Saintika* vol. 3. No 02 mei - 2006. Malang : UIN Press

Selfitri, Anggrahaeni Dewi. 2008. Efek Elisitasi Dan Transformasi Genetik Terhadap Produksi Asiatikosida Pada Kalus Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) *Abstrak Skripsi*. Bandung : ITB

Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C., Reddy, Y.S.R., dan Biplab D. 2010. Free Radicals, Antioxidants, Diseases and Phytomedicines : Current Status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Rivew and Research*. 3(1): 021.

Setiawan, 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia.* Bogor: Trubus Agriwidya.

Sherwood, Lauralee., Klandorf, Hillar dan Yancey, paul H. 2005. *Animal Physiology from Genes to Organisms*. United States: Thomson Brooks/Cole.

Shihab, M.Quraish. 2002. *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an.* Jakarta: Lentera Hati.

Shihab, Quraish. 2002. Tafsir *Al-Misbah: Pesan dan Kesan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.

Sikka, S., Rajasekaran, M., Hellstrom, W.J.G. (1995) Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Male Infertility. *Journal of Andrology*, 16,8-464.

Soeksmanto, A. Hapsari, Y. dan Simanjuntak, P. 2007., Antioxidant content of parts of mahkota dewa,,Phaleria macrocarpa [Scheff] Boerl. (Thymelaceae). *Bioversitas* ISSN: 1412-033X. 8 (2): 92-95.

Suarsana, I.N. 2009. Aktivitas Antioksidatif Ekstrak Metanol Tempe Terhadap Kadar Malondialdehide (MDA) dan Profil Enzim Antioksidan Intrasel Pada Pankreas Tikus Diabetes. *Skripsi.* Bogor: IPB

Sugianto. 2011. Penggunaan Media Bioflok Sebagai Upaya Pencegahan Infeksi Vibrio harveyi Pada Benih Udang Galah. *Skripsi*. Program Studi Sarjana Perikanan. Universitas Padjadjaran.

Sugito. 2012. Aktivitas Antioksidan Biologis Sorgum Dan Jewawut Serta Aplikasinya Pada Pencegahan Penyakit Degeneratif. *Jurnal Pembangunan Manusia.* 6, 1.

Suhaemi, K. 2007. Fisiologi Folikulogenesis dan Ovulasi. *Makalah pada Simposium Pertemuan Ilmiah.* Jakarta.

Suherman, Suharti K. 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi 4 : Estrogen, Antiestrogen, Progestin dan Kontrasepsi Hormonal.* Jakarta : Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Sulistiyaningsih, 2009. Potensi Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less.) Sebagai Inhibitor Terhadap *Pseudomonas aeruginosa Multi Resistant* dan *Methicillin Resistant Stapylococcus aureus. Laporan Penelitian Mandiri*. Diterbitkan. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran Bandung.

Supari, F. 1996. *Radikal Bebas dan Patofisiologi Beberapa Penyakit*. Di dalam Zakaria F.R., R. Dewanti, dan S. Yasni (Edt.). Di dalam : Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan : Reaksi Biomolekuler, Dampak terhadap Kesehatan dan Penangkalan. Kerjasama Pusat Studi Pangan dan Gizi IPB dengan Kedutaan Perancis. Jakarta.

Suryohudoyo, P. 2000. *Kapita Selekta Ilmu Kedokteran Molekuler*. Perpustakaan Nasional RI. Jakarta. Penerbit CV Sagung Seto.

Susetyarini, E dan Wahyuni, S. 2008. Pengembangan Senyawa Aktif Daun Beluntas Untuk Kontrasepsi per Oral Sebagai Upaya Pengembangan Bahan Anti fertilitas. *Laporan Penelitian*. Lemlit UMM

Susetyarini, Eko. 2003. Kadar Testosteron Pada Tikus Putih Jantan (*Ratus norwegicus*) yang Diberi Dekok Daun Beluntas. *Laporan Penelitian*. Lemlit UMM.

Susetyarini, Eko. 2007. Pengaruh Dekok Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less) Terhadap LD 50 (Toksisitas Akut) tikus putih jantan (*Ratus nurwegicus*). *Laporan Penelitian*. Lemlit UMM.

Susilawati dan Suyadi. 1992. *Pengantar Fisiologi Reproduksi*. LUW Animal Husbandry Project Universitas Brawijaya. Malang.

Syamsuhidayat, S.S and Hutapea, J.R, 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia, edisi kedua.* Departemen Kesehatan RI, Jakarta

Tapas, A. Sakarkar, D.M. dan Kakde, R.B. 2008., Flavonoids as nutraceuticals: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7(3) : 1089-1099.

Tisnajaya, Djadjat. 2005. Pengkajian Kandungan Fitosterol pada Tanaman Kedawung (*Parkia roxburgii* G. Don). Jurnal Biodiversitas Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Volume 7 No 1 hal 21-24.

Traithip, A. 2005., Phytochemistry and antioxidant activity of Pluchea indica. [*Thesis*] Mahidol University. Thailand.

Triyanto, Endang. 2014. *Pelayanan Keperawatan bagi Penderita Hipertensi secara Terpadu.* Yogyakarta: Graha Ilmu.

Turner, C Donnel dan Joseph T Bagnara. 1988. *Endokrinologi Umum.* Penerjemah : Harsojo. Yogyakarta : Penerbit Airlangga University Press.

Ward, J.P.T., R.W. Clarke and R.W.A. Linden. 2005. Physiology ata Glance. Blackwell Publishing, USA.

Wilkinson, J.M., S. Halley, and P.A. Tower. 2000. Comparison of male reproductive parameter in three rat strains: Dark Agouti, Sprague-Dawley, and Wistar. *Laboratory Animal*. 34:70-75.

Winarno. W dan Dian S., 1997. *Informasi tanaman Obat untuk Kontrasepsi Tradisional.* Jakarta : Depkes.

Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.

Winarto W.P. 2003. *Sambiloto: Budi Daya dan Pemanfaatan untuk Obat*. 1st.ed. Jakarta: Penebar Swadaya. P. 1-12.

Winda. 2006. *Siklus Hidup Ovarium*. Karya ilmiah PPDS Obsteri dan Ginekologi. Universitas Andalas

Winterstein, D.F., 1990. Velocity anisotropy terminology for geophysicists, Geophysics, 55, 1070 – 1088. *Society of Exploration Geophysicists*, Tulsa

Wolfensohn, S. E. dan Lloyd, M. H,. 2003. *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*, 3rd edition. Blackwell Science, Oxford, h. 85- 86.

Yatim, Wildan. 1994. *Histologi*. Bandung: Tarsito.

Yen SSC (1999).Chronic anovulation due to CNS-hypothalamic-pituitary dysfunction. In: Yen, SSC, Jaffe, RB, Barbieri, RL, eds. Reproductive endocrinology: physiology, pathophysiology and clinical management. Philadelphia, Saunders, 516

Yomes, Agus T. 2006. Sifat Prooksidan Dan Antioksidan Vitamin C Dan The Hijau Pada Sel Khamir Candida sp. Berdasarkan Peroksida Lipid. *Skripsi*. Bogor: IPB.

Yu Lin, H. Kuo, Y.H. Lin, Y.L. dan Chiang, W. 2009., Antioxidative effect and active components from leaves of lotus (Nelumbo nucifera). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 6623–6629.

Yusuf. T. L. 1990. Pengaruh prostaglandin F2α dan gonadotropin terhadap aktivitas estrus dan superovulasi dalam rangkaian kegiatan transfer embrio pada Sapi Fries Holland, Bali dan Peranakan Ongole. *Disertasi*. Fakultas Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Lampiran 1 : Data Jumlah Folikel Ovarium Setelah Perlakuan Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan Beluntas (*Plucea indica* (L.) Urban)

1. Folikel Primer Ovarium

Perlakuan	Ulangan ke-				Jumlah	Rata2
	1	2	3	4		
P0	0	2	0	1	3	0.75
P1	1	1	1	2	5	1.25
P2	5	9	4	1	19	4.75
P3	1	3	1	1	6	1.5
P4	2	4	1	2	9	2.25
P5	2	3	2	4	11	2.75

2. Folikel Sekunder Ovarium

Perlakuan	Ulangan ke-				Jumlah	Rata2
	1	2	3	4		
P0	5	6	10	4	25	6.25
P1	5	4	6	6	21	5.25
P2	5	10	10	8	33	8.25
P3	5	8	5	1	19	4.75
P4	4	3	8	1	16	4
P5	7	7	7	11	32	8

3. Folikel Tersier Ovarium

Perlakuan	Ulangan ke-				Jumlah	Rata2
	1	2	3	4		
P0	3	5	2	3	13	3.25
P1	3	4	6	4	17	4.25
P2	3	2	2	4	11	2.25
P3	5	2	2	2	11	2.75
P4	3	0	1	1	5	1.25
P5	1	4	4	3	12	3

4. Corpus Luteum Ovarium

Perlakuan	Ulangan ke-				Jumlah	Rata2
	1	2	3	4		
P0	4	6	6	4	20	5
P1	6	6	4	6	22	5.5
P2	2	6	11	11	30	7.5
P3	4	5	2	4	15	3.75
P4	0	0	4	3	7	1.75
P5	6	5	2	1	14	3.5

Lampiran 2: Data Kadar MDA dan SOD Ovarium Setelah Perlakuan Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan Beluntas (*Plucea indica* (L.) Urban)

1. Kadar MDA Ovarium Kiri

Perlakuan	Kadar MDA				Jumlah	Rata2
	1	2	3	4		
P0	20.037	17.932	17.245	18.868	74.082	18.5205
P1	26.983	28.546	29.632	31.189	116.35	29.0875
P2	18.389	20.087	20.433	19.311	78.22	19.555
P3	18.067	14.005	15.199	13.808	61.079	15.26975
P4	9.703	10.018	11.224	10.727	41.672	10.418
P5	6.453	7.833	5.718	8.955	28.959	7.23975
Total	99.632	98.421	99.451	102.858	400.362	100.0905

$$\boldsymbol{BNT}\ \mathbf{5\%} = \text{BNT Db galat X } \frac{\sqrt{2\text{KT Galat}}}{\text{ulangan}}$$

$$= 2{,}101 \text{ x } \frac{\sqrt{2 \text{ x } 1.97292652}}{4}$$

$$= 2{,}101 \text{ x } \sqrt{0.986466326}$$

$$= 2{,}101 \text{ x } 0.9932$$

$$= 2.08671$$

2. Kadar SOD Ovarium Kiri

Perlakuan	Kadar SOD				Jumlah	Rata2
	1	2	3	4		
P0	504.241	672.88	630.732	563.632	2371.485	592.87125
P1	207.642	172.187	225.526	217.72	823.075	205.76875
P2	709.087	719.022	744.336	668.41	2840.855	710.21375
P3	936.432	912.526	937.311	872.76	3659.029	914.75725
P4	1106.229	1013.716	1118.241	1106.64	4344.826	1086.2065
P5	1171.681	1152.094	1210.225	1181.872	4715.872	1178.968
Total	4635.312	4642.425	4866.371	4611.034	18755.142	4688.7855

$$\boldsymbol{BNT}\ \mathbf{5\%} = \text{BNT Db galat X } \frac{\sqrt{2\text{KT Galat}}}{\text{ulangan}}$$

$$= 2{,}101 \text{ x } \frac{\sqrt{2 \text{ x } 1822.6512}}{4}$$

$$= 2{,}101 \text{ x } \sqrt{911.3256}$$

$$= 2{,}101 \text{ x } 30.1881699$$

$$= 63.425345$$

Lampiran 3: Perhitungan Manual Statistik Hasil Penelitian Pengaruh Pemberian Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas Terhadap Jumlah Folikel Ovarium.

1. Hasil Uji ANAVA Folikel Primer

SK	Db	JK	KT	F hit.	F tab. 0.05
Perlakuan	5	41.20833	8.241667	3.173262	2.77
Galat	18	46.75	2.597222		
Total	23	87.95833			

$$\boldsymbol{BNT}\ \mathbf{5}\% = \text{BNT Db galat X } \frac{\sqrt{2\text{KT Galat}}}{\text{ulangan}}$$

$$= 2{,}101 \text{ x } \frac{\sqrt{2 \text{ x } 2.5972222}}{4}$$

$$= 2{,}101 \text{ x } \sqrt{1.298611}$$

$$= 2{,}101 \text{ x } 1.1395$$

$$= 2.39$$

2. Hasil Uji ANAVA Folikel Sekunder

SK	Db	JK	KT	Fhit.	Ftab.
Perlakuan	5	60.83333	12.16667	2.126214	2.77
Galat	18	103	5.722222		
Total	23	163.8333			

3. Hasil Uji ANAVA Folikel Tersier

SK	Db	JK	KT	Fhit.	Ftab.
Perlakuan	5	18.875	3.775	2.284034	2.77
Galat	18	29.75	1.652778		
Total	23	48.625			

4. Hasil Uji ANAVA Korpus Luteum

Data hasil di Transformasi

Perlakuan	Ulangan ke-				Jumlah	Rata2
	1	2	3	4		
P0	0.60206	0.778151	0.778151	0.60206	**2.760422483**	**0.690105621**
P1	0.778151	0.778151	0.60206	0.778151	**2.936513742**	**0.734128436**
P2	0.30103	0.778151	1.041393	1.041393	**3.161966616**	**0.790491654**
P3	0.60206	0.69897	0.30103	0.60206	**2.204119983**	**0.551029996**
P4	0	0	0.60206	0.477121	**1.079181246**	**0.269795312**
P5	0.778151	0.69897	0.30103	0	**1.77815125**	**0.444537813**
total	3.061452	3.732394	3.625724	3.500785	13.92035532	3.48008883

SK	Db	JK	KT	Fhit.	Ftab.
Perlakuan	5	0.782	0.156	2.341	2.77
Galat	18	1.20	0.066		
Total	23	1.98			

Lampiran 4: Perhitungan Statistik Hasil Penelitian Jumlah Folikel (Primer, Sekunder, Tersier dan Korpus Luteum) dengan SPSS

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
primer	24	2.21	1.956	0	9
sekunder	24	5.96	2.645	1	11
tersier	24	2.88	1.454	0	6
CL	24	4.50	2.766	0	11

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		primer	sekunder	tersier	CL
N		24	24	24	24
Normal Parameters[a]	Mean	2.21	5.96	2.88	4.50
	Std. Deviation	1.956	2.645	1.454	2.766
Most Extreme Differences	Absolute	.251	.141	.143	.210
	Positive	.251	.141	.143	.210
	Negative	-.185	-.109	-.118	-.137
Kolmogorov-Smirnov Z		1.228	.693	.701	1.031
Asymp. Sig. (2-tailed)		.098	.723	.710	.238

a. Test distribution is Normal.

Oneway

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
primer	kontrol	4	.75	.957	.479	-.77	2.27	0	2
	p1	4	1.25	.500	.250	.45	2.05	1	2
	p2	4	4.75	3.304	1.652	-.51	10.01	1	9
	p3	4	1.50	1.000	.500	-.09	3.09	1	3
	p4	4	2.25	1.258	.629	.25	4.25	1	4
	p5	4	2.75	.957	.479	1.23	4.27	2	4
	Total	24	2.21	1.956	.399	1.38	3.03	0	9
sekunder	kontrol	4	6.00	2.708	1.354	1.69	10.31	4	10
	p1	4	5.25	.957	.479	3.73	6.77	4	6
	p2	4	8.25	2.363	1.181	4.49	12.01	5	10
	p3	4	4.75	2.872	1.436	.18	9.32	1	8
	p4	4	4.00	2.944	1.472	-.68	8.68	1	8
	p5	4	8.00	2.000	1.000	4.82	11.18	7	11
	Total	24	6.04	2.678	.547	4.91	7.17	1	11
tersier	kontrol	4	3.25	1.258	.629	1.25	5.25	2	5
	p1	4	4.25	1.258	.629	2.25	6.25	3	6
	p2	4	2.75	.957	.479	1.23	4.27	2	4
	p3	4	2.75	1.500	.750	.36	5.14	2	5
	p4	4	1.25	1.258	.629	-.75	3.25	0	3
	p5	4	3.00	1.414	.707	.75	5.25	1	4
	Total	24	2.88	1.454	.297	2.26	3.49	0	6
CL	kontrol	4	5.00	1.155	.577	3.16	6.84	4	6
	p1	4	5.50	1.000	.500	3.91	7.09	4	6
	p2	4	7.50	4.359	2.179	.56	14.44	2	11
	p3	4	3.75	1.258	.629	1.75	5.75	2	5
	p4	4	1.75	2.062	1.031	-1.53	5.03	0	4
	p5	4	3.50	2.380	1.190	-.29	7.29	1	6
	Total	24	4.50	2.766	.565	3.33	5.67	0	11

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
primer	1.916	5	18	.141
sekunder	.472	5	18	.792
tersier	.130	5	18	.984
CL	6.499	5	18	.001

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
primer	Between Groups	41.208	5	8.242	3.173	.032
	Within Groups	46.750	18	2.597		
	Total	87.958	23			
sekunder	Between Groups	60.708	5	12.142	2.096	.113
	Within Groups	104.250	18	5.792		
	Total	164.958	23			
tersier	Between Groups	18.875	5	3.775	2.284	.090
	Within Groups	29.750	18	1.653		
	Total	48.625	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

primer

Duncan

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kontrol	4	.75	
p1	4	1.25	
p3	4	1.50	
p4	4	2.25	2.25
p5	4	2.75	2.75
p2	4		4.75
Sig.		.130	.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 5: Perhitungan Statistik Transformasi Data Hasil Penelitian Jumlah Folikel (Primer, Sekunder, Tersier dan Korpus Luteum) dengan SPSS

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
log10_primer	24	.2592	.28542	.00	.95
log10_sekunder	24	.7216	.26645	.00	1.04
log10_tersier	24	.4106	.23384	.00	.78
log10_CL	24	.5800	.29378	.00	1.04

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		log10_primer	log10_sekunder	log10_tersier	log10_CL
N		24	24	24	24
Normal Parameters[a]	Mean	.2592	.7216	.4106	.5800
	Std. Deviation	.28542	.26645	.23384	.29378
Most Extreme Differences	Absolute	.276	.216	.195	.238
	Positive	.276	.115	.127	.167
	Negative	-.182	-.216	-.195	-.238
Kolmogorov-Smirnov Z		1.354	1.059	.957	1.167
Asymp. Sig. (2-tailed)		.051	.212	.320	.131

a. Test distribution is Normal.

Oneway

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
log10_primer	kontrol	4	.0753	.15051	.07526	-.1642	.3148	.00	.30
	p1	4	.0753	.15051	.07526	-.1642	.3148	.00	.30
	p2	4	.5638	.40417	.20208	-.0793	1.2069	.00	.95
	p3	4	.1193	.23856	.11928	-.2603	.4989	.00	.48
	p4	4	.3010	.24579	.12289	-.0901	.6921	.00	.60
	p5	4	.4203	.14687	.07344	.1866	.6540	.30	.60
	Total	24	.2592	.28542	.05826	.1386	.3797	.00	.95
log10_sekunder	kontrol	4	.7500	.17281	.08641	.4750	1.0250	.60	1.00
	p1	4	.7143	.08364	.04182	.5812	.8474	.60	.78
	p2	4	.9005	.14192	.07096	.6747	1.1263	.70	1.00
	p3	4	.5753	.39539	.19770	-.0539	1.2044	.00	.90
	p4	4	.4956	.37565	.18783	-.1022	1.0933	.00	.90
	p5	4	.8942	.09815	.04907	.7380	1.0503	.85	1.04
	Total	24	.7216	.26645	.05439	.6091	.8342	.00	1.04
log10_tersier	kontrol	4	.4886	.16299	.08150	.2292	.7479	.30	.70
	p1	4	.6148	.12378	.06189	.4179	.8118	.48	.78
	p2	4	.4203	.14687	.07344	.1866	.6540	.30	.60
	p3	4	.4005	.19897	.09949	.0839	.7171	.30	.70
	p4	4	.1193	.23856	.11928	-.2603	.4989	.00	.48
	p5	4	.4203	.28633	.14316	-.0353	.8759	.00	.60
	Total	24	.4106	.23384	.04773	.3119	.5094	.00	.78
log10_CL	kontrol	4	.6901	.10167	.05083	.5283	.8519	.60	.78
	p1	4	.7341	.08805	.04402	.5940	.8742	.60	.78
	p2	4	.7905	.34911	.17455	.2350	1.3460	.30	1.04
	p3	4	.5510	.17281	.08641	.2760	.8260	.30	.70
	p4	4	.2698	.31568	.15784	-.2325	.7721	.00	.60
	p5	4	.4445	.36251	.18126	-.1323	1.0214	.00	.78
	Total	24	.5800	.29378	.05997	.4560	.7041	.00	1.04

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
log10_primer	.888	5	18	.510
log10_sekunder	1.889	5	18	.146
log10_tersier	.815	5	18	.554
log10_CL	3.585	5	18	.020

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
log10_primer	Between Groups	.831	5	.166	2.869	.045
	Within Groups	1.043	18	.058		
	Total	1.874	23			
log10_sekunder	Between Groups	.541	5	.108	1.782	.167
	Within Groups	1.092	18	.061		
	Total	1.633	23			
log10_tersier	Between Groups	.532	5	.106	2.638	.059
	Within Groups	.726	18	.040		
	Total	1.258	23			
log10_CL	Between Groups	.782	5	.156	2.342	.084
	Within Groups	1.203	18	.067		
	Total	1.985	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

log10_primer

Duncan

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kontrol	4	.0753	
p1	4	.0753	
p3	4	.1193	
p4	4	.3010	.3010
p5	4	.4203	.4203
p2	4		.5638
Sig.		.083	.160

Lampiran 6: Perhitungan Statistik Hasil Penelitian Kadar SOD dengan SPSS

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Data	24	7.81464E2	335.938733	172.187	1210.225

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Data
N		24
Normal Parameters[a]	Mean	7.81464E2
	Std. Deviation	3.359387E2
Most Extreme Differences	Absolute	.125
	Positive	.118
	Negative	-.125
Kolmogorov-Smirnov Z		.612
Asymp. Sig. (2-tailed)		.849

a. Test distribution is Normal.

Oneway

Descriptives

Data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	4	5.92871E2	74.263251	3.713163E1	474.70185	711.04065	504.241	672.880
1	4	2.05769E2	23.554365	1.177718E1	168.28850	243.24900	172.187	225.526
2	4	7.10214E2	31.573915	1.578696E1	659.97261	760.45489	668.410	744.336
3	4	9.14757E2	30.261163	1.513058E1	866.60499	962.90951	872.760	937.311
4	4	1.08621E3	48.646720	2.432336E1	1008.79871	1163.61429	1013.716	1118.241
5	4	1.17897E3	24.226332	1.211317E1	1140.41850	1217.51750	1152.094	1210.225
Total	24	7.81464E2	335.938733	6.857321E1	639.60976	923.31874	172.187	1210.225

Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.557	5	18	.065

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2562853.425	5	512570.685	281.223	.000
Within Groups	32807.722	18	1822.651		
Total	2595661.146	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Data

Duncan

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
1	4	2.05769E2					
0	4		5.92871E2				
2	4			7.10214E2			
3	4				9.14757E2		
4	4					1.08621E3	
5	4						1.17897E3
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 7: Perhitungan Statistik Hasil Penelitian Kadar MDA dengan SPSS

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
data	24	1.66818E1	7.280672	5.718	31.189

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		data
N		24
Normal Parameters[a]	Mean	1.66817E1
	Std. Deviation	7.280672E0
Most Extreme Differences	Absolute	.137
	Positive	.137
	Negative	-.088
Kolmogorov-Smirnov Z		.669
Asymp. Sig. (2-tailed)		.762

a. Test distribution is Normal.

Oneway

Descriptives

data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	4	1.85205E1	1.210201	.605101	16.59480	20.44620	17.245	20.037
1	4	2.90875E1	1.773408	.886704	26.26561	31.90939	26.983	31.189
2	4	1.95550E1	.907928	.453964	18.11028	20.99972	18.389	20.433
3	4	1.52698E1	1.963493	.981747	12.14539	18.39411	13.808	18.067
4	4	1.04180E1	.687106	.343553	9.32466	11.51134	9.703	11.224
5	4	7.23975	1.440917	.720459	4.94693	9.53257	5.718	8.955
Total	24	1.66817E1	7.280672	1.486161	13.60739	19.75611	5.718	31.189

Test of Homogeneity of Variances

data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.955	5	18	.471

ANOVA

data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1183.675	5	236.735	119.992	.000
Within Groups	35.513	18	1.973		
Total	1219.188	23			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

data

Duncan

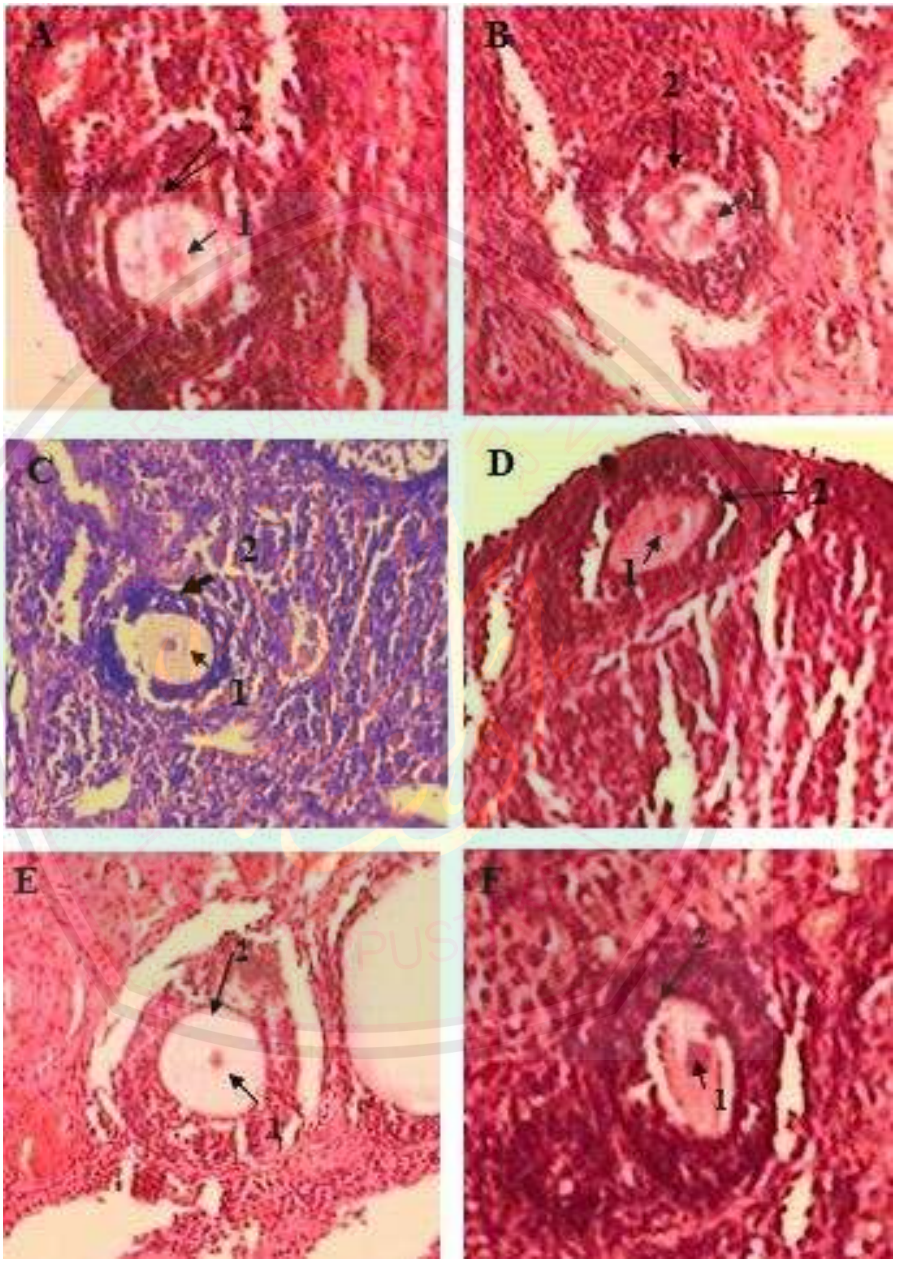
perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
5	4	7.23975				
4	4		1.04180E1			
3	4			1.52698E1		
0	4				1.85205E1	
2	4				1.95550E1	
1	4					2.90875E1
Sig.		1.000	1.000	1.000	.311	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM PUSAT PERPUSTAKAAN

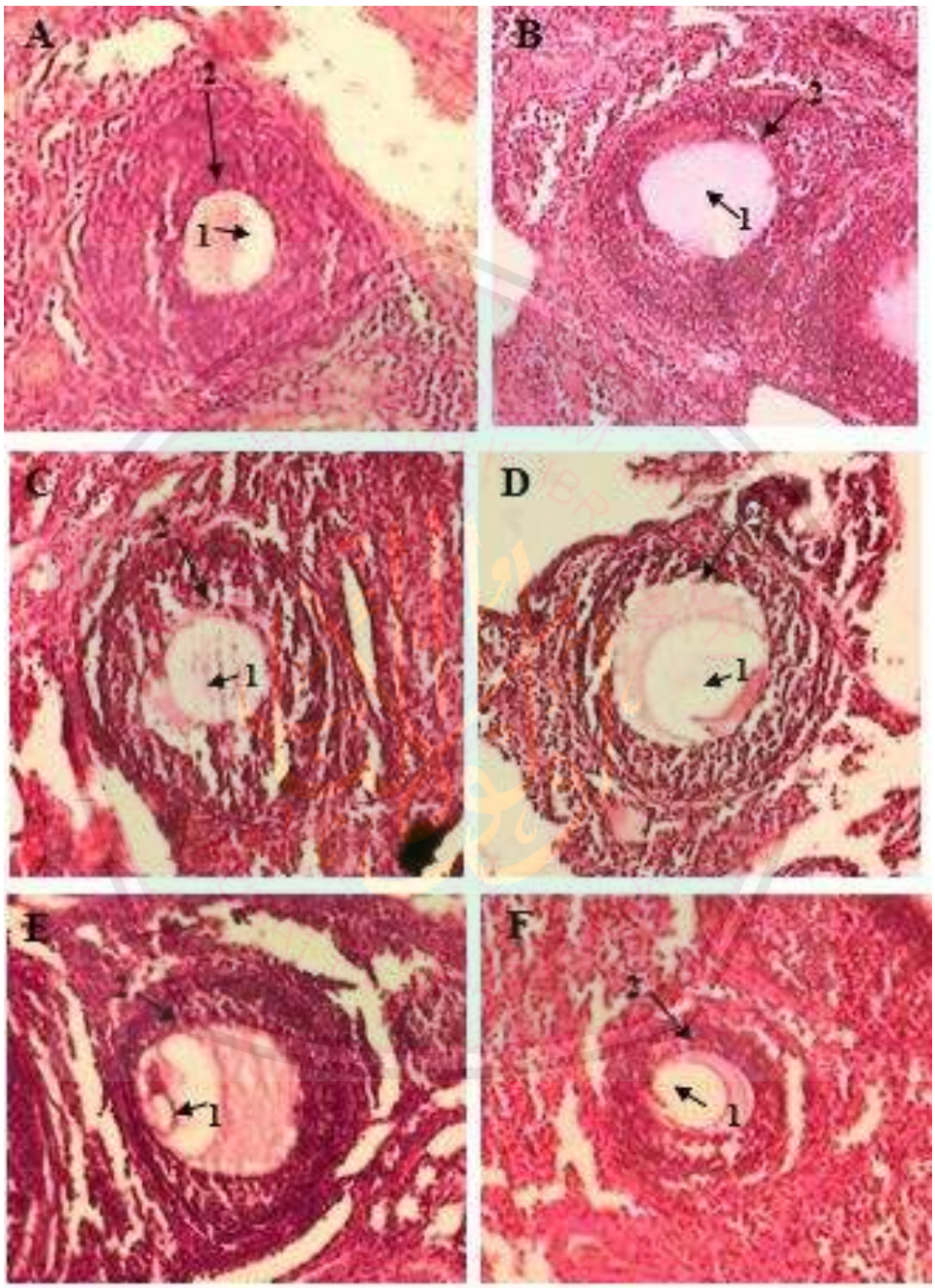
Lampiran 8: Gambar Pengamatan Folikel Ovarium

1. Folikel Primer



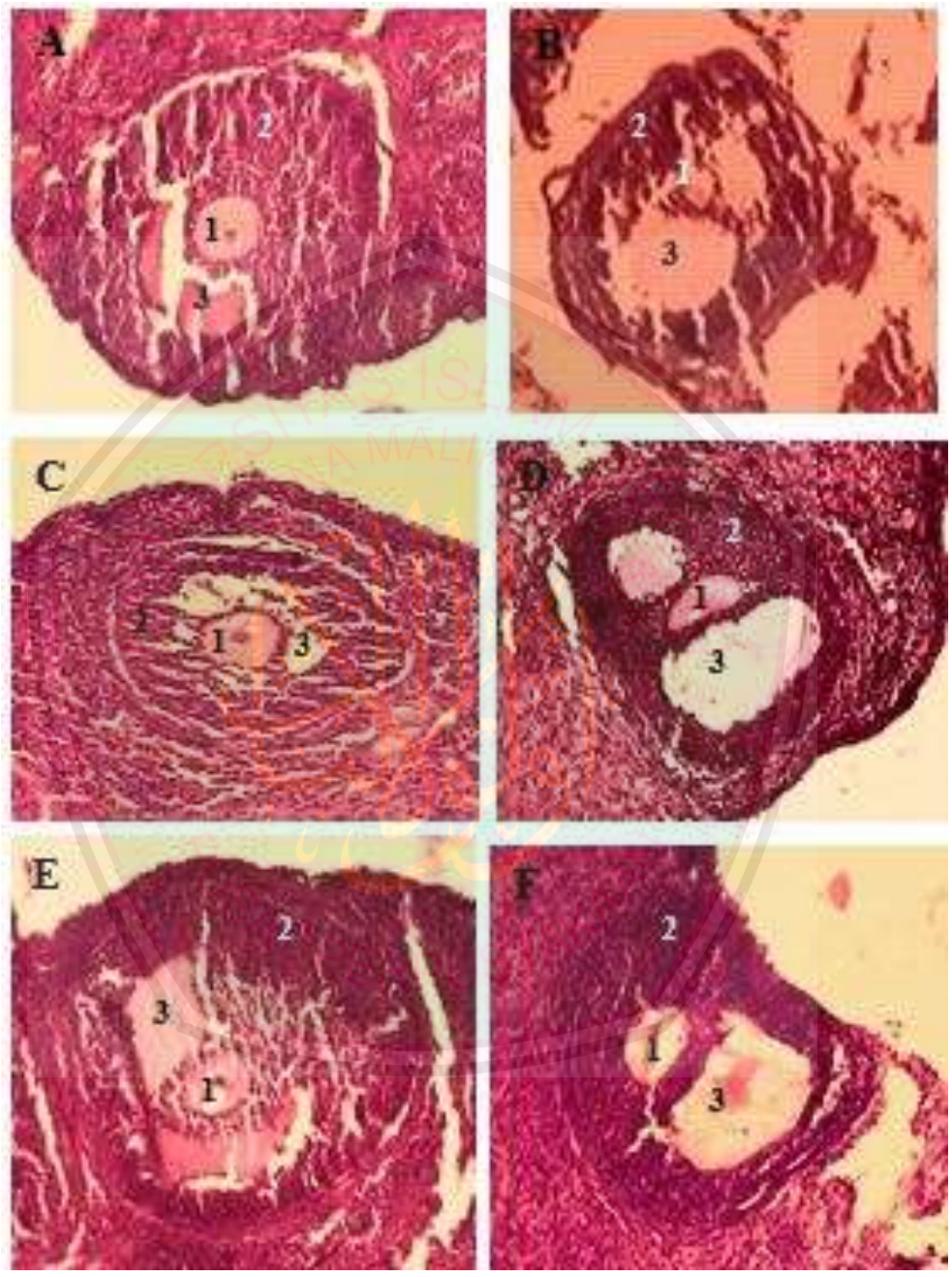
Gambar 8.1 Irisan Melintang Ovarium yang Memperlihatkan Folikel Primer (perbesaran 100x). A)Kelompok Kontrol, B) Dosis 25 mg/Kg BB, C) Dosis 50 mg/Kg BB, D) 75 mg/Kg BB, E) 125 mg/Kg BB, dan F) 200 mg/Kg BB. 1) Oosit, 2) Lapisan Sel Granulosa

2. Folikel Sekunder



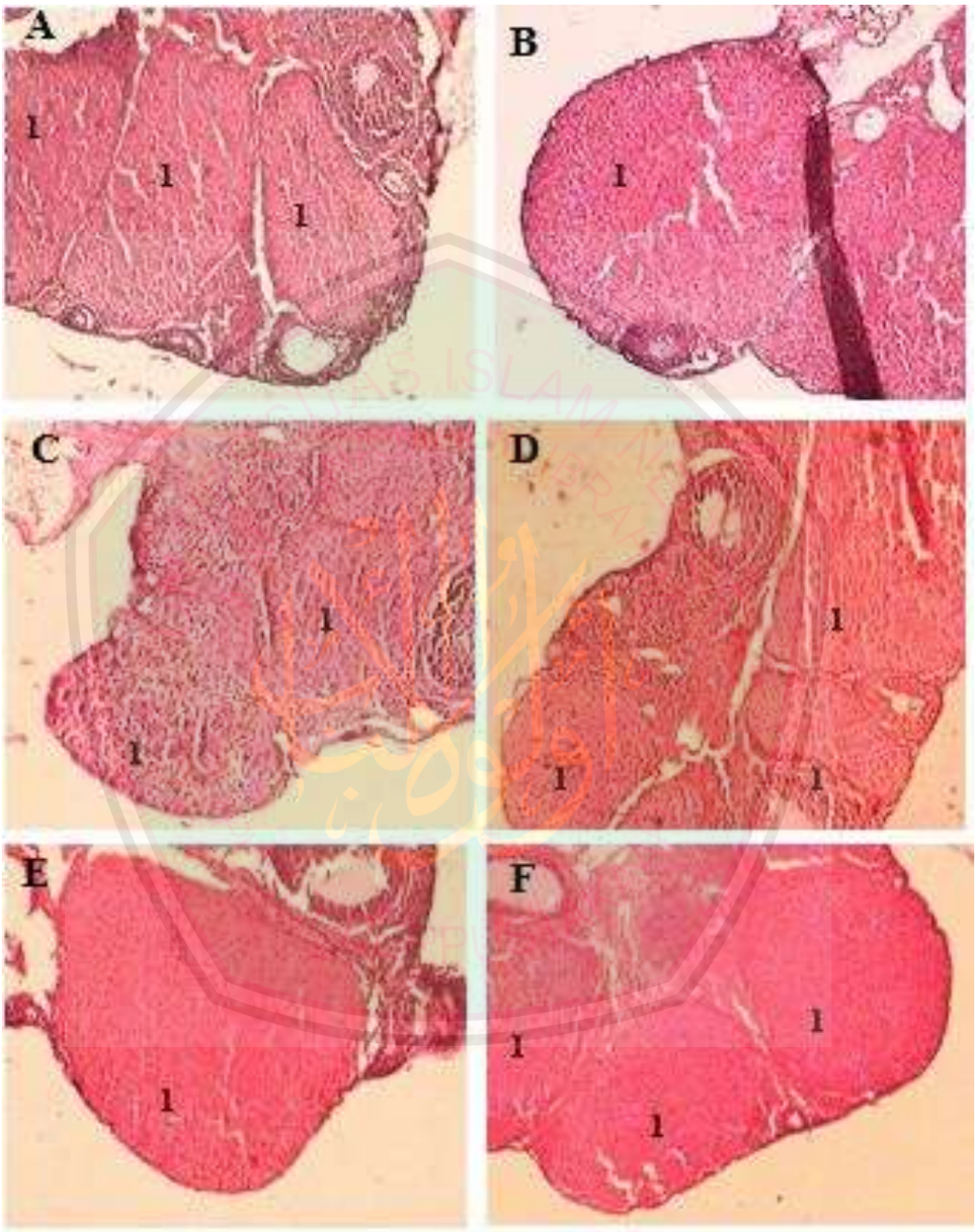
Gambar 8.2. Irisan Melintang Ovarium yang Memperlihatkan Folikel Sekunder (perbesaran 100x), A)Kelompok Kontrol, B) Dosis 25 mg/Kg BB, C) Dosis 50 mg/Kg BB, D) 75 mg/Kg BB, E) 125 mg/Kg BB, dan F) 200 mg/Kg BB. 1) Oosit, 2) Lapisan Sel Granulosa

3. Folikel Tersier



Gambar 8.3. Irisan Melintang Ovarium yang Memperlihatkan Folikel Tersier (perbesaran 100x). A)Kelompok Kontrol, B) Dosis 25 mg/Kg BB, C) Dosis 50 mg/Kg BB, D) 75 mg/Kg BB, E) 125 mg/Kg BB, dan F) 200 mg/Kg BB. 1) Oosit, 2) Lapisan Sel Granulosa 3)Antrum

4. Korpus Luteum



Gambar 8.4. Irisan Melintang Ovarium yang Memperlihatkan korpus luteum (Perbesaran 40x). A)Kelompok Kontrol, B) Dosis 25 mg/Kg BB, C) Dosis 50 mg/Kg BB, D) 75 mg/Kg BB, E) 125 mg/Kg BB, dan F) 200 mg/Kg BB. 1) Corpus luteum.

Lampiran 9:. Gambar Alat dan Bahan Penelitian

Timabnagan Analitik	**Kandang Hwean Coba**
Papan dan alat bedah	**Proses Pembedahan**

Organ Ovarium Tikus	**Ovarium**
Rotari Vacum Evaporator	**Injeksi Prostlaglandin**