

**PENGARUH TEH KOMBUCHA (*Camellia sinensis*) TERHADAP  
PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN COSTAE DAN  
METAKARPAL PADA SKELETON FETUS MENCIT  
(*Mus musculus*) SECARA *IN VIVO***

**SKRIPSI**

**Oleh :**

**ZHARIVAH ABDATILAH**

**17620100**



**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2022**

**PENGARUH TEH KOMBUCHA (*Camellia sinensis*) TERHADAP  
PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN COSTAE DAN  
METAKARPAL PADA SKELETON FETUS MENCIT (*Mus musculus*)  
SECARA *IN VIVO***

**SKRIPSI**

**Oleh :**

**ZHARIVAH ABDATILAH**

**17620100**

**diajukan Kepada :**

**Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Malang untuk  
Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh Gelar Sarjana (S.Si)**

**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM**

**MALANG**

**2022**

**PENGARUH TEH KOMBUCHA (*Camellia sinensis*)  
TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN  
COSTAE DAN METAKARPAL PADA SKELETON FETUS  
MENCIT (*Mus musculus*) SECARA *IN VIVO***

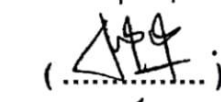
**SKRIPSI**

Oleh:  
**ZHARIVAH ABDATILAH**  
NIM.17620100

telah dipertahankan  
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima  
sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains (S.Si.)

Tanggal: 7 Juni 2022

|                      |                                                             |
|----------------------|-------------------------------------------------------------|
| Ketua<br>Penguji     | Dr. Kiptiyah, M.Si<br>NIP. 19731005 200212 2 003            |
| Anggota<br>Penguji 1 | Tyas Nyonita Pujungsari, M.Sc<br>NIP. 19920507 201903 2 026 |
| Anggota<br>Penguji 2 | Kholifah Holil, M.Si<br>NIP. 19751106 200912 2 002          |
| Anggota<br>Penguji 3 | Mujahidin Ahmad, M.Sc<br>NIP. 19860512 201903 1 002         |

()  
()  
()  
()



Mengesahkan,  
Ketua Program Studi Biologi  
DIN Maulana Malik Ibrahim Malang

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

**PENGARUH TEH KOMBUCHA (*Camellia sinensis*) TERHADAP  
PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN JUMLAH RUAS COSTAE  
DAN METAKARPAL PADA SKELETON FETUS MENCIT (*Mus  
musculus*) SECARA *IN VIVO***

**SKRIPSI**

Oleh:

**ZHARIVAH ABDATILAH**

**NIM. 17620100**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:

Tanggal : 07 Juni 2022

Pembimbing I



**Kholifah Holil, M. Si**

**NIP. 197511062009122002**

Pembimbing II



**Mujahidin Ahmad, M.Sc**

**NIP. 198605122019031002**

Mengetahui,

~~Actua~~ Program Studi Biologi



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

**NIP. 19741018200312 2 002**

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini diperuntukan kepada semua orang yang telah memberikan dukungan kepada penulis hingga skripsi ini dapat selesai, khususnya kepada :

1. Ayah dan Ibu tercinta, Bapak Ismail dan Ibu Sukasti yang telah sabar mendidik, memberikan motivasi dan selalu mendoakan serta berkerja keras memberikan banyak dukungan finansial untuk penelitian ini. Adik-adik saya, Muhammad Amirul Rosyid dan Ioshva Ariel Adisoetjipto yang tidak pernah lupa memberikan semangat dan doa dalam perjuangan saya.
2. Pembimbing prodi utama yakni Ibu Kholifah Holil, M. Si dan pembimbing agama Bapak Mujahidin Achmad yang telah banyak membimbing penulis dalam hal penulisan skripsi.
3. Ibu Dr. Kiptiyah M. Si selaku penguji utama dan Ibu Tyas Nyonita Pujungsari M. Sc selaku anggota penguji yang memberikan kritik juga saran di dalam penelitian penulis menjadi lebih baik.
4. Ibu Azizatur Rohmah M. Sc dan Ibu Nur Kusmiyati M. Si sebagai dosen wali yang telah banyak membantu membimbing penulis selama menjadi mahasiswa.
5. Teman sepenelitian saya, Erza Maura Rahmadanti yang telah banyak membantu mengerjakan rencana penelitian bersama-sama dan teman-teman semimbingan saya Rani, Nikmah, Tita, Riska, dan Naufal yang memberikan semangat juga membantu dalam penulisan skripsi.
6. Teman-teman Biologi D seperjuangan angkatan 2017, terkhususnya Nada dan Izza yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan beberapa berkas-berkas pendaftaran.
7. Suami masa depan saya, Bapak Ji Changwook yang sudah memberikan sedikit hiburan saat penulis merasa penat dan dapat melanjutkan kembali penulisan skripsi ini.
8. Serta seluruh pihak yang telah memberikan dukungan dan doanya kepada penulis yang tidak dapat diucapkan satu-persatu.

Malang, Juni 2022

Zharivah Abdatilah

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zharivah Abdatilah  
NIM : 17620100  
Program Studi : Biologi  
Fakultas : Sains dan Teknologi  
Judul Penelitian : Pengaruh Teh Kombucha (*Camellia sinensis*) Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Costae Fluktuantes dan Metakarpal pada Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus*) secara *In Vivo*

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

Malang,

yang membuat pernyataan



Zharivah Abdatilah

NIM. 17620100

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, tapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya

## **MOTTO**

**“Selama kita masih bertahan hidup di dunia ini, nikmatilah semua proses yang melelahkan dan perjuangan ini dengan tulus.”**

**Pengaruh teh kombucha (*Camelia sinensis*) terhadap pertumbuhan dan perkembangan costae dan metakarpal pada skeleton fetus mencit (*Mus musculus*) secara *in vivo***

Zharivah Abdatilah, Kholifah Holil, Mujahidin Achmad

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

**ABSTRAK**

Kombucha adalah minuman fermentasi yang dibuat dari campuran teh dan gula dengan bakteri dan ragi. Setiap jenis kombucha memiliki kandungan yang berbeda-beda, salah satunya dari olahan teh hijau. Skeleton adalah parameter yang dapat digunakan untuk mengetahui pengaruh suatu zat, contohnya adalah costae dan metakarpal. Tujuan pada penelitian ini adalah mengetahui pengaruh teh hijau kombucha terhadap jumlah ruas dan malformasi costae skeleton fetus mencit. Jenis penelitian menggunakan analisis deskriptif dengan sampel yang digunakan adalah fetus mencit (*Mus musculus*). Perlakuan yang digunakan adalah kontrol (normal), kontrol negatif dengan pemberian alkohol 0,56 ml/BB, dan 3 dosis teh hijau kombucha yang berbeda yaitu 0,26 ml/BB, 0,39 ml/BB dan 0,52 ml/BB selama 10 hari kebuntingan. Parameter yang diamati adalah kecacatan skeleton fetus berupa jumlah ruas dan malformasi costae fluktuantes dan metakarpal. Hasil penelitian menunjukkan teh kombucha mempengaruhi jumlah fetus dan jumlah ruas costae dan malformasinya serta tidak berpengaruh pada jumlah ruas metakarpal dan bentuk tulangnya.

***Kata kunci : costae, jumlah ruas, malformasi, metakarpal, teh kombucha hijau***

**EFFECT OF KOMBUCHA TEA (*Camellia sinensis*) ON COSTAE AND  
METACARPAL GROWTH AND DEVELOPMENT IN MICE FETUS  
SKELETON (*Mus musculus*) *IN VIVO***

Zharivah Abdatilah, Kholifah Holil, Mujahidin Achmad

Biology Program Study, Faculty of Science and Technology, The State Islamic  
University of Maulana Malik Ibrahim Malang

**ABSTRACT**

Kombucha is a fermented drink made from a mixture of tea and sugar with bacteria and yeast. Each type of kombucha has a different content, example is kombucha's green tea. Skeleton is a parameter that can be used to determine the effect of a substance, for example the ribs and metacarpals. The purpose of this study was to determine the effect of kombucha green tea on the number of segments and malformations of the costae skeleton of the fetus in mice. This type of research uses descriptive analysis with the sample used is mice fetus (*Mus musculus*). The treatments used were control (normal), negative control with 0.56 ml/BW of alcohol, and 3 different doses of kombucha green tea, namely 0.26 ml/BW, 0.39 ml/BW and 0.52 ml/BW for 10 days of pregnancy. Parameters observed were segmental fetal skeleton and fluctuant and metacarpal cost costae malformations. The results showed that kombucha tea affected the number of fetuses and the number of costal segments and their malformations and had no effect on the number of metacarpal segments and bone shape.

**Keywords :** *costae, kombucha's green tea, malformation, metacarpal, segments*

تأثير شاي كومبوتشا (كاميليا سينينسيس) على نمو وتطور الضلع والعظام المشطية على  
هيكل جنين الفئران  
(*Mus musculus*) في الجسم الحي

زرافة عبدة الله ، خليفة خليل ، مجاهدين أحمد

قسم علم الأحياء بكلية العلوم والتكنولوجيا  
جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

**مستخلص البحث**

الكمبوتشا هو مشروب مخمر مصنوع من خليط من الشاي والسكر مع البكتيريا والخميرة. يحتوي كل نوع من أنواع الكمبوتشا على محتويات مختلفة ، واحد منهم من الشاي الأخضر المعالج. الهيكل العظمي هو معلمة يمكن استخدامها لوصف تأثير مادة ما ، على سبيل المثال الضلع والعظام المشطية. الغرض من هذا البحث هو لوصف تأثير شاي الكمبوتشا الأخضر على عدد المفاصل والتشوهات وتشوه ضلع الهيكل العظمي لجنين الفئران. يستخدم هذا النوع التحليل الوصفي والعينة المستخدمة جنين الفئران (*Mus musculus*). كانت العلاجات المستخدمة هي الضابط (العادي) ، والضابط السلبي بإعطاء الكحول 0.56 مليلتر / الوزن و 3 جرعات مختلفة من شاي الكمبوتشا الأخضر ، وهي 0.26 مليلتر / الوزن ، 0.39 مليلتر / الوزن ، و 0.52 مليلتر / الوزن. أظهرت النتائج أن شاي الكمبوتشا يتأثر على عدد الأجنة وعدد مفاصل الأضلاع وتشوهاتها ولا يتأثر على عدد المفاصل المشطية وشكل العظام.

**الكلمات الرئيسية:** شاي الكمبوتشا الأخضر ، الضلع ، العظام المشطية ، عدد المفاصل ، التشوه

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

*Bismillahirrahmanirrahim*, dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah ﷻ yang telah melimpahkan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“Pengaruh Teh Hijau Kombucha (*Camelia sinensis*) terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Costae dan Metakarpal Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus*) secara *In Vivo*”**, sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) Program Studi Biologi. Tidak lupa shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad ﷺ yang telah menegakkan agama Islam sampai akhir zaman. Amin.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak mungkin terselesaikan tanpa adanya dukungan, bantuan, bimbingan, dan nasehat dari berbagai pihak selama penyusunan skripsi ini. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih setulus-tulusnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M. Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Hariani M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Evika Sandi Savitri, M. P. selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Kholifah Holil, M. Si dan Bapak Mujahidin Ahmad, M. Si selaku pembimbing I dan II, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan dalam meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga tugas skripsi ini dapat diselesaikan.
5. Ibu Azizatur Rohmah dan Nur Kusmiati, M. Si, selaku dosen wali yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi dengan baik.

Semoga amal baik yang telah diberikan penulis mendapat balasan dari Allah ﷻ. Skripsi ini sudah ditulis dengan cermat dan sebaik-baiknya, namun apabila ada kekurangan, saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Malang, Juni 2022

Penulis

## DAFTAR ISI

|                                           |                                     |
|-------------------------------------------|-------------------------------------|
| HALAMAN JUDUL .....                       | i                                   |
| HALAMAN PERSETUJUAN .....                 | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| HALAMAN PENGESAHAN .....                  | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| HALAMAN PERSEMBAHAN .....                 | iv                                  |
| HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN ..... | v                                   |
| PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....           | vi                                  |
| MOTTO .....                               | vii                                 |
| ABSTRAK .....                             | viii                                |
| ABSTRACT .....                            | ix                                  |
| مستخلص البحث .....                        | ي                                   |
| KATA PENGANTAR.....                       | xi                                  |
| DAFTAR ISI .....                          | xii                                 |
| DAFTAR TABEL .....                        | xiv                                 |
| DAFTAR GAMBAR .....                       | xv                                  |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                     | xvi                                 |

## BAB I PENDAHULUAN

|                            |   |
|----------------------------|---|
| 1.1. Latar Belakang.....   | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah.....  | 7 |
| 1.3. Tujuan .....          | 7 |
| 1.4. Hipotesis .....       | 7 |
| 1.5. Manfaat .....         | 7 |
| 1.6. Batasan Masalah ..... | 8 |

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

|                                           |    |
|-------------------------------------------|----|
| 2.1. Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) ..... | 9  |
| 2.2. Fermentasi .....                     | 23 |

## BAB III METODOLOGI PENELITIAN

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| 3.1. Jenis Penelitian ..... | 33 |
|-----------------------------|----|

|                                        |    |
|----------------------------------------|----|
| 3.2. Waktu dan Tempat Penelitian ..... | 33 |
| 3.3. Alat dan Bahan .....              | 33 |
| 3.4. Variabel Penelitian .....         | 34 |
| 3.5. Populasi dan Sampel .....         | 34 |
| 3.6. Prosedur Penelitian.....          | 35 |

#### **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

|                                                                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1. Pengaruh Teh Hijau Kombucha ( <i>Camelia sinensis</i> ) terhadap<br>Jumlah Ruas Costae Fluktuantes dan Metakarpal Skeleton Fetus Mencit<br>( <i>Mus musculus</i> ) secara <i>In Vivo</i> ..... | 43 |
| 4.2. Pengaruh Teh Hijau Kombucha ( <i>Camelia sinensis</i> ) terhadap<br>Malformasi Costae Fluktuantes dan Metakarpal Skeleton Fetus Mencit<br>( <i>Mus musculus</i> ) secara <i>In Vivo</i> .....  | 51 |

#### **BAB V KESIMPULAN DAN SARAN**

|                      |    |
|----------------------|----|
| 5.1. Kesimpulan..... | 58 |
| 5.2. Saran.....      | 58 |

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| <b>DAFTAR PUSTAKA</b> ..... | 59 |
|-----------------------------|----|

|                       |    |
|-----------------------|----|
| <b>LAMPIRAN</b> ..... | 76 |
|-----------------------|----|

## DAFTAR TABEL

| Tabel                                                                                                                                                                                      | Halaman |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 4.1.1. Rata-rata pengaruh teh hijau kombucha ( <i>Camelia sinensis</i> ) terhadap jumlah fetus, ruas costae fluktuantes dan metakarpal skeleton fetus mencit ( <i>Mus musculus</i> ) ..... | 60      |
| 4.1.2. Persentase jumlah fetus yang mengalami osifikasi ruas costae fluktuantes sempurna dan tidak sempurna fetus mencit ( <i>Mus musculus</i> ) pada kelompok perlakuan .....             | 63      |
| 4.1.3. Persentase jumlah fetus mencit ( <i>Mus musculus</i> ) yang mengalami osifikasi sempurna dan tidak sempurna pada kelompok perlakuan .....                                           | 66      |
| 4.1.4. Jenis malformasi pada costae fluktuantes dan metakarpal fetus mencit ( <i>Mus musculus</i> ) terhadap semua kelompok perlakuan.....                                                 |         |

## DAFTAR GAMBAR

| Tabel                                                                                                                                    | Halaman |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 2.1.4.1. Morfologi mencit ( <i>Mus musculus L.</i> ).....                                                                                | 11      |
| 2.1.5.1.1. Fase proestrus mencit ( <i>Mus musculus L.</i> ).....                                                                         | 13      |
| 2.1.5.1.2. Fase estrus mencit ( <i>Mus musculus L.</i> ) .....                                                                           | 14      |
| 2.1.5.1.3. Fase metestrus mencit ( <i>Mus musculus L.</i> ) .....                                                                        | 14      |
| 2.1.5.1.4. Fase diestrus mencit ( <i>Mus musculus L.</i> ) .....                                                                         | 15      |
| 2.1.6.1.1. Bagian-bagian tulang rusuk (costae).....                                                                                      | 19      |
| 2.1.6.1.2.1. Anatomi tulang-tulang telapak tangan .....                                                                                  | 20      |
| 2.1.6.1.2.2. Sistem skeletal mencit ( <i>Mus musculus L.</i> ).....                                                                      | 20      |
| 2.3.1.1.1. Morfologi daun teh hijau ( <i>Camelia sinensis</i> ).....                                                                     | 25      |
| 2.3.2.1. Kombucha SCOBY dalam teh .....                                                                                                  | 26      |
| 3.6.1. Skema tahap penelitian .....                                                                                                      | 35      |
| 3.6.2. Tiga jenis sel utama dalam sampel apusan vagina.....                                                                              | 38      |
| 4.2.1. Perbandingan bentuk costae fluktuantes normal dengan costae fluktuantes malformasi pada fetus mencit ( <i>Mus musculus</i> )..... | 55      |
| 4.2.2. Perbandingan bentuk metakarpal normal dengan malformasi metakarpal pada fetus mencit ( <i>Mus musculus</i> ).....                 | 56      |

## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Hasil pengujian laboratorium terkait kandungan alkohol pada kombucha teh hijau ..... | 72 |
| 2. Dokumentasi penelitian.....                                                          | 74 |
| 3. Bukti konsultasi dosen Biologi .....                                                 | 76 |
| 4. Bukti konsultasi dosen Agama .....                                                   | 78 |
| 5. Bukti checklist plagiasi .....                                                       | 79 |

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Fermentasi adalah sebuah inovasi yang telah dibuat oleh manusia dan digunakan untuk mengubah substrat organik menjadi produk yang bermanfaat (Kumar *et al.*, 2019). Inovasi ini telah digunakan dalam berbagai bidang, salah satunya dalam industri makanan. Banyak perubahan biokimia terjadi selama fermentasi dan dapat mempengaruhi senyawa nutrisi dan akibat dari sifat produk akhir, seperti bioaktivitas dan pencernaan (Hur, Lee, Kim, Choi, & Kim, 2014) sehingga istilah makanan fermentasi menjadi naik di masyarakat (Shiferaw & Augustin, 2020).

Makanan dan minuman hasil fermentasi dapat ditemui dalam bentuk yang beragam, contohnya adalah teh kombucha (Vitas, Malbasa, Grahovac, & Loncar, 2013) yang terdiri dari simbiosis asam asetat bakteri (*Gluconobacter*, *Acetobacter*) (Leala *et al.*, 2018), bakteri asam laktat (*Lactobacillus*, *Lactococcus*), berbagai jenis ragi (*Saccharomyces ludwiga*, *Zygosaccharomyces baili*, dan pelikel selulosa (Mousavi *et al.*, 2020 ; Villareal-Soto *et al.*, 2018). Banyaknya mikroorganisme yang terkandung dalam teh kombucha membuat teh tersebut telah diklaim memiliki banyak khasiat bagi kesehatan antara lain antioksidan, antibakteri, memperbaiki mikrobiota usus, dapat meningkatkan ketahanan tubuh dan menurunkan tekanan darah (Khaerah & Akbar, 2019).

Selain itu, terdapat kandungan asam laktat, asam asetat, asam glukuronat, asam sitrat, asam oksalat, asam malat, asam glukonat, asam butirat, asam nukleat, asam kondroitin sulfat, dan asam hyaluronat yang merupakan kelompok asam yang terkandung dalam minuman teh kombucha. Teh kombucha juga mengandung vitamin B1, B2, B6, B12, asam folat dan vitamin C, selain beberapa asam amino esensial, dan berbagai enzim penting yang memiliki banyak manfaat bagi tubuh, serta etanol dan CO (Ayu dkk., 2020). Minuman ini menjadi marak di masyarakat, terutama ibu hamil yang mengkonsumsinya secara rutin untuk tujuan untuk menjaga kesehatan (Firdaus dkk., 2017).

Kombucha bisa diproduksi dalam bentuk rumahan dalam skala kecil maupun skala besar dalam bentuk perusahaan. Kombucha Brewers International

(KBI) adalah organisasi nirlaba komersial yang terlibat dalam promosi dan perlindungan produsen minuman. Sebagian besar perusahaan yang terlibat dalam produksi dan distribusi Kombucha berlokasi di Amerika Utara: 134 perusahaan berbasis di Amerika Serikat, 28 di Kanada. Di Eropa, sebagian besar produsen ditemukan di Spanyol dan Inggris. Secara keseluruhan, sekarang lebih dari 200 jenis yang berbeda dari minuman kombucha tersedia di dunia. Pasar global kombucha didominasi oleh Amerika Utara, dengan pangsa sekitar 52%, wilayah dengan pertumbuhan tercepat di dunia adalah Asia-Pasifik. Secara global, nilai pasar Kombucha global pada tahun 2019 adalah USD 1,67 miliar, sedangkan pada 2020 sekitar USD 2,2 miliar, dan diprediksi akan tumbuh pada tingkat pertumbuhan tahunan majemuk berbasis pendapatan (CAGR) hampir 20% dalam beberapa tahun hingga 2027 (Antolak *et al.*, 2021).

Masa organogenesis adalah masa yang rentan bagi ibu hamil, tidak semua makanan atau minuman dapat dikonsumsi (Kole *et al.*, 2009). Eboh *et al.* (2019), memberikan pernyataan bahwa kontak dengan banyak zat selama kehamilan dapat mempengaruhi janin. Hal tersebut termasuk obat herbal dan suplemen, obat-obatan konvensional, dan faktor lingkungan. Menurut Aprilia (2020), tahapan kedua masa kehamilan ini dimulai dari 2-8 minggu. Organ dan sistem tubuh utama berkembang pesat. Ini adalah masa kritis saat embrio paling rentan terhadap pengaruh destruktif dari lingkungan prenatal. Sistem atau struktur organ yang masih berkembang pada saat terpapar lebih mungkin untuk terkena efeknya.

Kandungan berbagai asam dalam kombucha terjadi akibat proses fermentasi (Khaerah & Akbar, 2019 ; Yavari *et al.*, 2018). Semua asam ini bertanggung jawab atas karakteristik rasa asam yang ada di dalam teh kombucha (Jayabalan, Marimuthu, & Swaminathan, 2007). Kandungan asam organik utama yang terdapat dalam teh kombucha setelah difermentasi selama 14 hari adalah asam asetat dan asam glukonat, serta asam glukuronat (Bhattacharya *et al.*, 2011 ; Jayabalan *et al.*, 2014 ; Sengun & Kirmizigul, 2020). Salah satunya adalah asam glukuronat, memiliki efek detoksifikasi terhadap obat, bilirubin, dan bahan kimia, serta polutan dan kelebihan hormon steroid (Vina *et al.*, 2013; Sengun & Kirmizigul, 2020). Pada penelitian Chen & Liu (2000) yang mengevaluasi perlakuan yang berbeda pada kombucha selama 60 hari, kandungan asam glukuronat mencapai 39.000 mg/L.

Namun pada teh hijau mengandung asam glukoronat sebesar 839,06–1,158,2 mg/L pada akhir fermentasi (Shahbazi *et al.*, 2018).

Asam glukoronat bersifat masuk langsung ke dalam darah (Murugesan *et al.*, 2009). Peningkatan asam menyebabkan pengasaman darah yang berlebihan, yang dapat menyebabkan perubahan keseimbangan tubuh, dan pada kasus yang parah bahkan dapat menyebabkan kematian (Ong *et al.*, 2011) terutama pada masa fermentasi lebih dari 10 hari (Kumar *et al.*, 2015). Hal ini membuat asam glukoronat bersifat teratogen (Perron, 1995). Wanita hamil harus berhati-hati terhadap kandungan asam glukoronat yang bersifat detoksifikasi (membersihkan) sehingga dimungkinkan bahan-bahan bermanfaat akan terpaksa dikeluarkan dari tubuh (Kole *et al.*, 2009).

Selain asam, hasil fermentasi kombucha juga menghasilkan etanol atau alkohol (Herwin *et al.*, 2013). Etanol ini merupakan hasil pengubahan gula seperti glukosa, sukrosa dan fruktosa dari ragi (Jang *et al.*, 2021). Ragi ini bisa berjenis *S. cerevisiae* yang memproduksi etanol secara anaerob (Pratiwi & Aryawati, 2012). Berdasarkan ijtihad fatwa Majelis Ulama' Indonesia (MUI) Nomor 10 Tahun 2018, produk minuman hasil fermentasi yang mengandung alkohol/etanol kurang dari 0,5% hukumnya halal jika secara medis tidak membahayakan (Pradana & Priyono, 2021). Beberapa referensi menerangkan kandungan etanol pada teh kombucha berbeda-beda, yakni 0,7-1,3 % (Kapp & Sumner, 2019), 0,2-3,5 % (Jakubczyk *et al.*, 2020) dan 0,06-1,95 % (Tan *et al.*, 2020).

Konsumsi alkohol selama kehamilan dapat mengakibatkan efek teratogenik yang dapat menyebabkan bayi baru lahir didiagnosis menderita *Fetal Alcohol Spectrum Disorder* (FASD) atau *Fetal Alcohol Syndrome* (FAS) (Vall *et al.*, 2015). Kapp *et al.* (2019) dari hasil studi Food and Drug Administration telah membuktikan terdapat kandungan alkohol pada teh kombucha berkisar 0,7% hingga 1,3% yang dikhawatirkan menyebabkan kecacatan janin pada ibu hamil. Pada teh kombucha jenis teh hijau (*green tea*), kadar alkoholnya justru melebihi 1,3%, sehingga beresiko lebih tinggi terhadap ibu hamil. Hal ini diambil berdasarkan studi Jakubczyk *et al.* (2020) yang menyebutkan kadar alkohol teh kombucha hijau berkisar 3,5 % pada hari ke-7 fermentasi dan hari-14 sekitar 4,28%. Musa *et al.*

(2019) dan Sebastian *et al.* (2018) menyebutkan minuman beralkohol memiliki efek teratogen pada trisemester pertama baik dosis rendah maupun tinggi.

Teh kombucha juga mengandung senyawa polifenol, alkaloid seperti kafein, teofilin, dan teobromin, asam amino, karbohidrat, protein, klorofil, mineral dan komponen lain. Senyawa polifenol merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat (Cabrera *et al.*, 2003). Salah satu kombucha yang memiliki kadar polifenol yang tinggi adalah yang berasal dari teh hijau yang mengandung kadar polifenol 30-40% lebih tinggi dibanding teh hitam sebanyak 10% (Zowail *et al.*, 2009). Polifenol yang terkandung dalam teh kombucha juga berfungsi sebagai zat antikanker dengan menghambat mekanisme pembentukan kanker seperti mutasi gen dan proliferasi sel kanker (Conney *et al.*, 2002).

Kombucha juga mengandung kafein yang berasal di dalam daun teh (Leala *et al.*, 2018; Ratanarmo *et al.*, 2017). Umumnya mengandung sekitar 3-12mg kafein per porsi 4oz. Menurut Spesialis Informasi Organisasi Teratologi (studi cacat lahir), mengonsumsi kafein selama kehamilan tidak apa-apa dalam jumlah sedang (200mg per hari). Peringatan dari FDA ini berasal dari penelitian yang dilakukan pada tahun 1980-an yang menunjukkan bahwa kafein dosis tinggi menyebabkan cacat lahir pada hewan pengerat (Crum & Alex, 2016).

Allah ﷻ menjelaskan dalam Al-Qur'an Surah Abasa' ayat 24 sebagai berikut :

﴿فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ﴾ (٢٤)

Artinya : *maka hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya* (QS. Abasa' [80]:24).

Pada ayat di atas terdapat anjuran untuk memperhatikan makanan yang masuk ke dalam tubuh . Menurut Tafsir Ringkas Kemenag RI (2012), arti dari memperhatikan makanan adalah mengetahui darimana makanan itu berasal. Kemudian dalam Hidayatul Insan bi Tafsiril Qur'an, Allah ﷻ mengarahkan manusia agar memperhatikan dan memikirkan makanannya, dan bagaimana makanan itu sampai kepadanya. Selanjutnya dalam Tafsir as-Sadi (2007), Allah ﷻ mengarahkannya untuk merenung dan berpikir pada makanannya, bagaimanakah makanan itu sampai padanya setelah melalui berbagai fase dan dimudahkan untuk mendapatkannya. Sehingga, dari ayat berikut dapat diambil

pengertian bahwa makanan yang masuk ke dalam tubuh hendaknya dipikirkan dan diperhatikan baik dari asal mendapatkan dan efeknya untuk tubuh.

Dalam hal lain, selain efek yang ditimbulkan dari teh kombucha, persoalan tentang sterilitas bagi mikroorganisme yang terkandung dalam teh fermentasi ini juga perlu diperhatikan (Leal *et al.*, 2018). Bagi wanita hamil, teh ini dimungkinkan mengandung heparin (komponen glikoaminoglikan) sehingga menghambat sistem pembekuan darah, hal ini dapat membahayakan pada kehamilan trimester ketiga (Delgado, 2015 ; Harmanto & Subroto, 2007).

Teh kombucha memang telah diklaim memiliki banyak manfaat sebagaimana yang disebutkan sebelumnya, namun tidak semua hal yang dikandungnya adalah baik untuk dikonsumsi. Allah ﷻ berfirman dalam sebuah ayat yakni Al-Qur'an Surah Al-A'raf ayat 31 sebagai berikut :

﴿يَا بَنِي آدَمَ خُذُوا زِينَتَكُمْ عِنْدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ (٣١)﴾

*Artinya : Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di setiap (memasuki) mesjid, makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan (QS. Al-A'raf [7]:31).*

Allah ﷻ telah memerintahkan kepada manusia untuk makan dan minum secara tidak berlebih-lebihan (لَا تُسْرِفُوا) dikarenakan berdampak buruk bagi kesehatan tubuh. Menurut Tafsir Al-Muyassar (2016), ayat ini berarti makan dan minum dari barang yang baik-baik yang dikaruniakan Allah ﷻ dan tidak melampaui batas wajar. Tafsir As-Sa'di (2007) menyebutkan jangan berlebih-lebihan (لَا تُسْرِفُوا) dalam hal ini bisa dalam kemewahan dalam makan dan minum atau melampaui batas halal dan haram. Hidayatul Insan bi Tafsiril Quran menerangkan jangan berlebih-lebihan (لَا تُسْرِفُوا) artinya jangan melampaui batas yang dibutuhkan oleh tubuh. Dari hal ini, apabila zat yang dibutuhkan terlampaui banyak, dapat menimbulkan dampak buruk bagi tubuh misalnya pembentukan organ yang terganggu saat kehamilan.

Kecacatan pada kehamilan tidak hanya terjadi pada pertumbuhan dan perkembangan eksternal morfologi fetus, namun juga pada skeleton/tulanganya. Konsumsi alkohol memiliki efek buruk pada orang dewasa dan tulang yang sedang berkembang. Tulang adalah jaringan aktif dan rentan terhadap efek samping.

Kebiasaan konsumsi minuman beralkohol bahkan dalam jumlah sedang menyebabkan pengurangan massa tulang, peningkatan prevalensi patah tulang dan faktor resiko utama perkembangan sekunder osteoporosis (Eluwa *et al.*, 2010).

Sepertiga dari kecacatan lahir disebabkan malformasi kraniofasial yang dapat disebabkan oleh konsumsi alkohol berlebih selama kehamilan (Dixon *et al.*, 2006). Pada penelitian yang dilakukan oleh Ramadoss *et al.* (2006), dosis 0,75 dan 1,75 g/kg BB alkohol yang diberikan pada domba bunting memberikan pengaruh dosis alkohol yang lebih tinggi mengakibatkan penurunan kekuatan tulang femoralis janin jika dibandingkan dengan subjek kontrol normal. Sebaliknya, dosis alkohol yang lebih rendah meningkatkan kekuatan femoral janin dibandingkan dengan subjek kontrol normal. Tulang janin yang terpapar alkohol juga cenderung menunjukkan pengurangan panjang. Paparan alkohol berlebihan selama kehamilan menghasilkan perbedaan tergantung dosis pada stres maksimum yang diserap oleh tulang janin. Sedangkan menurut penelitian Zhang *et al.* (2017), paparan etanol sekitar 2% menginduksi dua jenis fenotipe pada embrio ayam fase awal. Pertama, terjadi penurunan produksi NCC (neurocysticercosis) kranial tanpa NTD/*neural tube defect* / NTD (defek tuba neural) (malformasi ringan), dan kedua NTD disertai penurunan produksi NCC kranial (malformasi berat).

Keasaman (pH) rendah dapat menyebabkan peningkatan risiko degradasi tulang, dan penyakit jantung (Applegate *et al.*, 2017). Penelitian baik *in vitro* dan *in vivo* dari Tan *et al.* dan Shangguan *et al.* juga menyarankan, konsumsi kafein yang berlebihan membahayakan sistem muskuloskeletal termasuk tulang rawan hialin (Tan *et al.*, 2018 & Shangguan *et al.*, 2017).

Kandungan alkohol, asam dan beberapa senyawa seperti polifenol dan kafein dalam teh kombucha akan berdampak terhadap pertumbuhan dan perkembangan tulang janin. Berangkat dari hal ini, dilakukanlah penelitian terhadap mencit (*Mus musculus*) bunting untuk mengetahui pengaruh teh hijau (*Camellia sinensis*) kombucha terhadap fetus dengan cara memberikan teh kombucha dengan dosis 0,26 ml/20 g BB); 0,39 ml/20 g BB, dan 0,52 ml/20 g BB pada pertumbuhan dan perkembangan skeletal hewan coba yang digunakan berdasarkan penelitian Naland tahun 2004. Penelitian yang tersedia dalam hal konsumsi kombucha selama kehamilan dapat digunakan sebagai panduan untuk konsumsi kombucha dan dapat

membantu mengetahui efek dari kadar alkohol yang tinggi, kafein, dan asupan asam selama kehamilan secara terus-menerus (Blaszczyk-Bebenek *et al.*, 2018; Saraf-Bank *et al.*, 2018; Sbrana *et al.*, 2016; Van Der Hoeven *et al.*, 2017). Hasil dari penelitian ini diharapkan akan membantu wanita-wanita hamil menentukan batas yang aman dalam hal konsumsi kombucha maupun minuman fermentasi lain.

### **1.2. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah apakah terdapat pengaruh kombucha teh hijau terhadap pertumbuhan dan perkembangan jumlah ruas dan malformasi costae fluktuantes serta metakarpal pada skeleton fetus mencit (*Mus musculus*) secara *in vivo*?

### **1.3. Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh kombucha teh hijau terhadap pertumbuhan dan perkembangan jumlah ruas dan malformasi costae fluktuantes serta metakarpal pada skeleton fetus mencit (*Mus musculus*) secara *in vivo*.

### **1.4. Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini adalah :

1. Teh hijau kombucha memberikan pengaruh terhadap costae dan metakarpal skeleton fetus mencit.
2. Teh hijau kombucha tidak memberikan pengaruh terhadap costae dan metakarpal skeleton fetus mencit.

### **1.5. Manfaat**

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

#### **a. Teoritis**

1. Memberi informasi pengaruh teh hijau kombucha terhadap pertumbuhan dan perkembangan costae serta metakarpal skeleton fetus mencit.

#### **b. Aplikatif**

1. Membuat pembaca tahu teh kombucha dapat memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan costae serta metakarpal skeleton fetus mencit secara *in vivo* dan dapat mengetahui ada atau tidaknya batas aman pengkonsumsian kombucha teh hijau pada ibu hamil

#### 1.6. Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Sampel penelitian : fetus hasil perkawinan mencit (*Mus musculus*) galur Swiss-Webster betina siap kawin berumur 6-8 minggu sebanyak 32 ekor dengan bobot 18-35 g dan jantan siap kawin berumur 12 minggu berbobot 20-40 g sebanyak 32 ekor.
- b. Zat uji yang dipakai berupa minuman teh hijau kombucha instan dengan 5 perlakuan: P1 (kelompok kontrol) (normal), P2 (kelompok kontrol positif (alkohol 0,56 ml/20 g BB), P3 (teh kombucha 0,26 ml/20 g BB), P4 (teh kombucha 0, 39 ml/20 g BB), dan P5 (teh kombucha 0,52 ml/20 g BB) secara oral selama 10 hari kebuntingan (G-6 sampai G-15) sehari sebanyak satu kali pemberian.
- c. Perlakuan : mencit (*Mus musculus* L.) jantan dan betina dikawinkan dengan perbandingan 1 : 1 Hari ke-0 kebuntingan (G-0) dihitung setelah muncul sumbat vagina (*vaginal plug*). Pembedahan dimulai pada hari ke-18 (G-18) kebuntingan untuk diambil skeleton pada fetus.
- d. Parameter yang diperiksa : pertumbuhan dan perkembangan skeleton fetus berupa jumlah ruas dan kelainan yang terjadi pada costae dan metakarpal.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Mencit (*Mus musculus*)

#### 2.1.1. Tinjauan Umum

Hewan percobaan adalah hewan yang digunakan untuk penelitian biologis maupun biomedis dan dipelihara secara intensif di laboratorium. Salah satu hewan laboratorium yang banyak digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) (Hasanah dkk., 2015). Mencit banyak digunakan sebagai hewan uji karena hewan ini memiliki sistem reproduksi, pernapasan, dan peredaran darah yang menyerupai manusia. Salah satu keuntungan penggunaan mencit sebagai hewan uji karena mencit memiliki sistem reproduksi yang relatif singkat dan keturunan yang dihasilkan juga banyak (Ngatidjan dan Hakim, 1990). Hal ini difirmankan Allah ﷻ dalam Al-Qur'an Surah An-Nahl ayat 5 sebagai berikut :

﴿وَالْأَنْعَامَ خَلَقَهَا لَكُمْ فِيهَا دِفْءٌ وَمَنَافِعُ وَمِنْهَا تَأْكُلُونَ﴾ (٥)

*Artinya: Dan hewan ternak telah diciptakan-Nya untuk kamu. padanya ada (bulu) yang menghangatkan dan berbagai manfaat, dan sebagiannya kamu makan (QS. An-Nahl [16]:5)*

Pada ayat di atas mengandung kata kunci مَنَافِعُ yakni binatang ternak yang mengandung banyak manfaat. Menurut Tafsir Hidayatul Insan bi Tafsiril Qur'an (2010), makna ini berarti untuk manfaat dan maslahat manusia, di antaranya manusia memperoleh kehangatan dari bulunya, dan memperoleh manfaat lainnya. Kemudian menurut Tafsir Ringkas Agama RI (2006), manfaat yang dimaksud adalah manfaat lain yang dapat diambil dalam kehidupan. Sedangkan dalam Zubdatut Tafsir Min Fathil Qadir (2013), maksud kata مَنَافِعُ adalah seperti untuk diambil air susunya, ditunggangi, ditenakkan, dipakai untuk mengolah tanah perkebunan, dan lain sebagainya. Oleh karena itu, dari ayat ini dapat disimpulkan binatang yang diciptakan Allah ﷻ memiliki berbagai manfaat untuk kehidupan manusia, contohnya adalah mencit yang dipelihara untuk diambil manfaatnya dalam penelitian.

#### 2.1.2. Taksonomi

Mencit memiliki taksonomi sebagai berikut (Auffray & Britton-Davidian, 2012) :

|            |                       |
|------------|-----------------------|
| Kingdom    | : Animalia            |
| Filum      | : Chordata            |
| Sub filum  | : Vertebrata          |
| Class      | : Mamalia             |
| Subclass   | : Tehria              |
| Ordo       | : Rodentia            |
| Sub ordo   | : Myomorpha           |
| Family     | : Muridae             |
| Sub family | : Murinae             |
| Genus      | : Mus                 |
| Species    | : <i>Mus musculus</i> |

### 2.1.3. Habitat Mencit (*Mus musculus*)

Mencit adalah hewan asli Asia, India, dan Eropa Barat. Mencit awalnya telah didistribusikan dari wilayah Mediterania ke Cina, tetapi sekarang telah menyebar ke seluruh dunia oleh manusia (Kurta, 1995). Mencit umumnya hidup dekat dengan manusia, contohnya di rumah dan lumbung-lumbung. Mereka juga menempati ladang pertanian, pagar, dan bahkan hutan, tetapi mereka jarang jauh dari bangunan. Beberapa individu menghabiskan musim panas di ladang dan pindah ke lumbung dan rumah dengan permulaan cuaca musim gugur yang sejuk. Mencit dapat menghuni daerah yang tidak ramah (seperti tundra dan gurun) yang tidak dapat mereka tempati secara mandiri karena dekat dengan manusia (Hannebaum *et al*, 2017).

### 2.1.4. Morfologi Mencit

Mencit memiliki banyak keunggulan sebagai hewan percobaan, yaitu siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganannya. Mencit memiliki bulu pendek halus berwarna putih serta ekor berwarna kemerahan dengan ukuran lebih panjang dari pada badan dan kepala. Ciri-ciri lain mencit secara umum adalah tekstur rambut lembut dan halus, bentuk hidung kerucut terpotong, bentuk badan silindris agak membesar ke belakang warna rambut putih, mata merah, ekor merah muda. Mencit

merupakan hewan yang termasuk dalam famili Murideae. Mencit liar atau mencit rumah adalah hewan satu spesies dengan mencit laboratorium. Semua galur mencit laboratorium sekarang ini merupakan keturunan dari mencit liar sesudah melalui peternakan selektif (Nugroho, 2018).



**Gambar 2.1.4. 1. Morfologi mencit (*Mus musculus* L.)** (Timmermans S. *et al.*, 2017)

Mencit dikategorikan dalam hewan *crepuscular*, yaitu hewan yang aktif saat senja dan malam hari. Daur hidup mencit berkisar satu hingga dua tahun bahkan ada yang lebih dan mencapai tiga tahun. Mencit dapat dikawinkan setelah usia dewasa yaitu sekitar delapan minggu. Lama kebuntingan mencit dari 17-21 hari dengan jumlah anak hingga 6 ekor. Berat mencit jantan dewasa sekitar 20-40 gram dan betina dewasa 18-35 gram (Nugroho, 2018).

#### **2.1.5. Siklus Reproduksi Mencit (*Mus musculus*)**

Siklus reproduksi disebut siklus estrus. Estrus atau birahi adalah suatu periode secara psikologis dan fisiologis yang bersedia menerima pejantan untuk berkopulasi dan siklus estrus ini hanya dilakukan oleh mamalia bukan primata yang tidak menstruasi (Partodiharjo, 2002). Siklus estrus adalah periode awal estrus sampai ke periode estrus berikutnya. Siklus estrus merupakan aktivitas antara hipotalamus, hipofisis, dan ovarium. Mencit termasuk hewan poliestrus artinya, dalam satu tahun mengalami siklus estrus berulang. Selama siklus estrus ini terjadi berbagai perubahan pada organreproduksi maupun pada perubahan tingkah laku

seksual. Siklus estrus dapat dipengaruhi oleh faktor cahaya, suhu, status nutrisi dan hubungan sosial (Dillasamola, 2020). Penentuan siklus estrus ini dapat diperiksa melalui hapusan vagina atau secara visualisasi (Ramadhani., 2017).

#### 2.1.5.1. Siklus Estrus

Siklus estrus umumnya terdiri dari empat fase, yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus. Namun ada juga yang membagi siklus estrus hanya menjadi dua fase, yaitu fase folikuler atau estrogenik yang meliputi proestrus, estrus, dan fase luteal yang terdiri dari metestrus-diestrus (Toelihere, 1979). Pada tikus dan mencit, siklus estrusnya termasuk poliestrus hanya saja jika hewan tersebut menyusui maka aktivitas seksual seolah-olah juga terhenti dan pada waktu itu disebut *lactational diestrus* (Sagi, 1994).

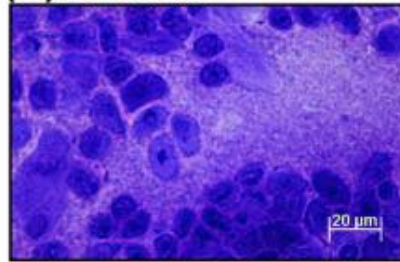
Secara morfologi, pada fase proestrus, lubang vagina tampak penuh, bengkak dan lembab. Jaringannya berwarna merah muda, dengan guratan-guratan di bibir dorsal dan ventral vulva. Pada estrus, vagina tampak mirip dengan proestrus, tetapi kurang merah muda, kurang bengkak dan kurang lembab dengan lurik yang lebih menonjol. Pada metestrus, lubang vagina pucat dan kering dengan serpihan sel putih. Ciri-ciri diestrus termasuk lubang vagina yang sangat basah, yang terkadang terlalu kecil dan tertutup pada beberapa tikus tanpa pembengkakan jaringan (Ajayi *et al.*, 2020).

Perubahan-perubahan yang terjadi dalam ovarium dan vagina yang ditunjukkan oleh preparat *vaginal smear* adalah sebagai berikut (Partodihardjo, 1980 ; Austin dan Short (1984) :

##### 1. Proestrus

Proestrus adalah fase persiapan dan biasanya berlangsung dalam waktu yang relatif pendek. Pada fase ini juga mulai terlihat perubahan pada alat kelamin betina. Pada ovarium terlihat pertumbuhan folikel sampai pada ukuran maksimum. Pada fase ini juga terjadi LH *surge* yang dibutuhkan untuk mengimbas ovulasi. Pada preparat *vaginal smear* ditemukan sel-sel peralihan, yaitu peralihan dari sel-sel parabasal dan sel-sel intermediet menuju sel superfisial.

(D) Proestrus



(a)

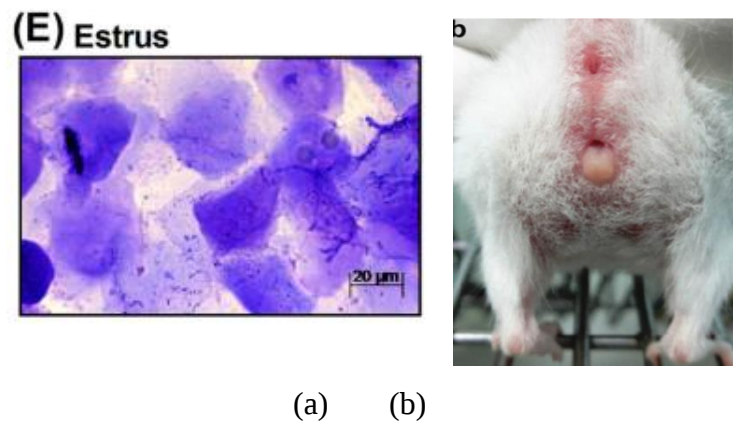


(b)

**Gambar 2.1.5.1.1. Fase proestrus mencit (*Mus musculus* L.)** (a.) dijumpai banyak leukosit secara histologis (Aguiar *et al.*, 2018), (b.) penampakan vagina fase proestrus secara morfologi (Ekarambam *et al.*, 2017)

## 2. Estrus

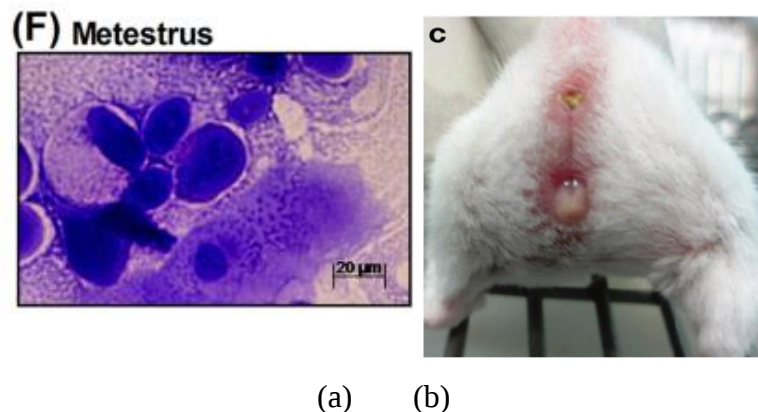
Estrus merupakan fase yang terpenting dalam siklus estrus, karena dalam fase ini hewan betina menunjukkan perilaku mau menerima hewan jantan untuk melakukan kopulasi. Perubahan yang terjadi pada ovarium yaitu dimulainya pemasakan bagi folikel yang telah dimulai perubahannya pada fase proestrus. Dengan demikian folikel pada fase estrus adalah folikel yang telah siap untuk diovulasikan. Gambaran preparat *vaginal smear* pada fase ini ditandai dengan ditemukannya banyak sel-sel superfisial. Sel superfisial adalah sel terbesar yang dapat dilihat dalam *vaginal smear*, berbentuk poligonal dan terlihat sangat pipih. Nukleus terkadang tidak ditemukan atau ditemukan tetapi sangat kecil dan gelap (piknotik). Sel-sel superfisial yang tanpa inti tersebut seringkali mengalami kornifikasi. Pada fase ini terkadang ditemukan leukosit dalam jumlah yang sangat sedikit. Fase estrus merupakan periode birahi dan dapat terjadi kopulasi dalam tahap ini.



**Gambar 2.1.5.1.1. Fase estrus mencit (*Mus musculus L.*),** (a.) fase ini tidak dijumpai leukosit pada sediaan hapus vagina. pada fase ini mencit mau melakukan perkawinan (Aguiar *et al.*, 2018), (b.) Penampakan vagina fase estrus secara morfologi (Ekarambam *et al.*, 2017)

### 3. Metestrus

Metestrus adalah fase dalam siklus estrus yang terjadi segera setelah estrus berakhir. Dalam ovarium terjadi pembentukan korpus hemoragikum pada tempat folikel de Graaf yang baru saja melepaskan ovum. Banyak leukosit muncul dalam lumen vagina dengan sedikit sel-sel superfisial.

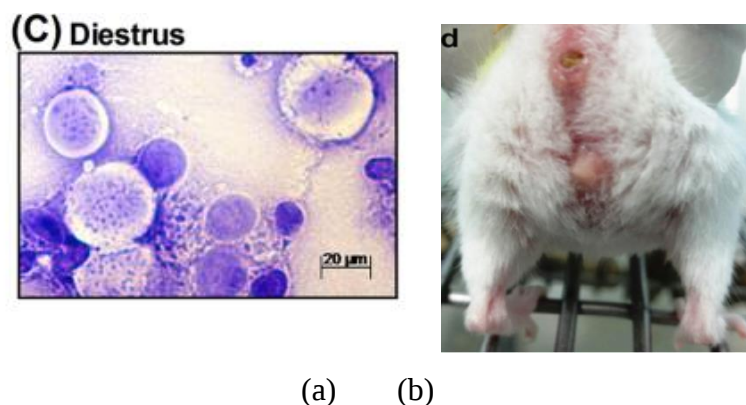


**Gambar 2.1.5.3. Fase metestrus mencit (*Mus musculus L.*),** (a.) Pada fase ini dijumpai sedikit leukosit pada sediaan apus vagina (Aguiar *et al.*, 2018), (b.) Penampakan vagina fase metestrus secara morfologis (Ekarambam *et al.*, 2017)

#### 4. Diestrus

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. Diestrus adalah fase yang terlama diantara fase-fase lain dalam siklus estrus.

Pada fase ini terjadi penurunan jumlah sel-sel superfisial pada preparat *vaginal smear* dan munculnya sel-sel parabasal yaitu sel epitel terkecil yang dapat ditemukan pada *vaginal smear* dengan bentuk bulat atau agak bulat. Sel-sel parabasal mempunyai inti yang besar. Selain itu juga dapat ditemukan adanya sel-sel intermediet yang mempunyai bentuk beragam dan ukurannya biasanya dua sampai tiga kali lipat dari sel parabasal.



**Gambar 2.1.5.1.2. Fase diestrus mencit (*Mus musculus* L.),** (a.) Pada fase ini dijumpai satu atau dua sel leukosit pada sedian apus vagina (Aguiar *et al.*, 2018), (b) Penampakan vagina fase diestrus secara morfologi (Ekarambam *et al.*, 2017)

#### 2.1.5.2. Kopulasi dan Fertilisasi

Mencit termasuk hewan yang hanya melakukan kopulasi pada malam hari. Mencit betina akan mulai birahi pada pukul 16.00-22.00. Ketika terjadi kopulasi maka sperma akan bergerak menuju tempat pembuahan. Pada mencit terjadinya kopulasi ditandai dengan adanya sumbat vagina pada liang vagina (*vaginal plug*) (Dillasamola, 2020). Pembentukan sumbat vagina dimulai dengan sebagian air

mani pertama kali dikeluarkan dari daerah serviks dan sekresi epitel vagina setelah kawin (Lee, 2020). Fertilisasi adalah proses penyatuan ovum (sel telur) dengan spermatozoa, dimana proses ini merupakan tahap awal pembentukan embrio. Fertilisasi merupakan suatu proses yang sangat penting dan merupakan titik puncak dari serangkaian proses yang terjadi sebelumnya (Puja dkk., 2010). Fertilisasi pada mencit akan terjadi 7-10 jam sesudah kopulasi. Setelah itu embrio akan mencapai stadium blastula dalam waktu 3-5 hari (Dillasamola, 2020). Tahap fertilisasi diawali dengan adanya perjumpaan spermatozoa dan ovum, dimana sel sperma menebus dinding sel ovum mencapai zona pellusida (Akbar, 2021). Fertilisasi mencit (*Mus musculus*) pada umumnya terjadi di ampulla atau bagian awal dari oviduct (Mauledy, 2021).

Kebuntingan mencit berlangsung selama 17-21 hari sampai fetus dilahirkan. Bentuk morfologi abdomen mencit tampak semakin membesar karena penambahan dosis uterus selama kebuntingan disertai dengan meningkatnya viskositas cairan amnion dan alantois untuk melindungi fetus (Purnama dkk., 2018).

#### **2.1.5.3. Implantasi**

Implantasi merupakan proses tertanamnya blastokis ke dalam dinding endometrium yang berperan penting dalam keberhasilan reproduksi. Proses tersebut melibatkan interaksi antara embrio pada tahap blastokis dengan endometrium uterus (Kodaman & Taylor, 2004). Implantasi ini dimulai dengan menempelnya trofoblas yang menutupi innercellmass. Tempat blastosis biasanya di antara dua kelenjar rahim. Implantasi embrio terjadi pada endometrium uterus non-glandular yang disebut crypta. blastosis tidak langsung menempel pada endometrium tetapi bebas mengapung. Blastosis yang mengapung mendapatkan nutrisi dari kelenjar uterus yang disebut susu uterus. Implantasi terjadi setelah 4-5 hari sesudah fertilisasi (Smith & Mangkoewidjojo, 1988).

#### **2.1.5.4. Embriologi**

Setelah pembuahan, sel telur mengalami proliferasi sel, diferensiasi sel, migrasi sel, dan organogenesis (Muchtharomah, 2007). Embrio kemudian melewati suatu metamorfosis dan periode perkembangan fetus sebelum lahir. Periode perkembangan fetus antara lain sebagai berikut (Dillasamola, 2020) :

##### **A. Tahap Pradiferensi/Blastula**

Tahap ini dimulai setelah ovulasi dan dilanjutkan dengan perkembangan membran zigot primitif di uterus. Lamanya tahap ini berkisar antara 5-9 hari, tergantung dari jenis spesiesnya.

### **B. Tahap Organogenesis/Embrio**

Tahap pembentukan organ-organ dan sistem tubuh serta perubahan bentuk tubuh yang terjadi pada hari kehamilan ke-6 sampai kehamilan hari ke-16. Pada periode ini sel secara intensif mengalami diferensiasi, mobilisasi, dan organisasi. Periode ini biasanya berakhir setelah beberapa waktu yaitu pada hari ke-10 sampai hari ke-14 pada hewan pengerat dan pada minggu ke-14 pada manusia.

### **C. Tahap Fetus/Janin**

Tahap terjadinya perkembangan dan pematangan fungsi jaringan, organ dan sistem yang tumbuh.

#### **2.1.5.5. Kelahiran**

Fertilitas mencit betina maupun jantan dapat dilihat dari jumlah anak yang dilahirkan (Johnson, 2013). Jumlah anak mencit rata-rata 6-15 ekor dengan berat lahir antara 0,5-1,5 g (Soewolo, 2010). Banyaknya jumlah anak yang dilahirkan oleh induk mencit dipengaruhi oleh umur mencit, musim kelahiran, nutrisi dan kondisi lingkungan, jumlah sel telur yang dihasilkan serta tingkat kematian embrio yang sangat berpengaruh terhadap jumlah anak yang dilahirkan (Nugroho, 2008). Morfologi tubuh saat anak mencit lahir adalah tidak berambut, buta, kaki yang belum berkembang, ekor yang pendek serta lubang telinga yang masih tertutup (Dillasamola, 2020).

#### **2.1.6. Sistem Skeletal Mencit (*Mus musculus L.*)**

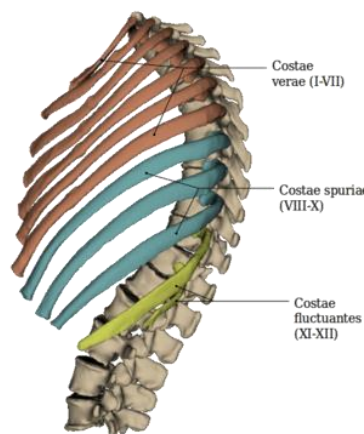
##### **2.1.6.1. Anatomi Sistem Skeletal**

Sistem skeleton tersusun atas dua komponen utama yaitu: skeleton aksial dan skeleton appendikuler. Skeleton aksial merupakan rangka penyusun tubuh yang terdiri atas tengkorak, vertebrae, rusuk, dan sternum. Sementara skeleton appendikuler yaitu bagian dari sistem rangka yang mencakup pergerakan tersusun atas pektoral, pelvis dan tungkai. Rumus vertebrae untuk mencit adalah C7T13L6S4C28 dengan beberapa variasi di antara strain, khususnya pada thorak dan daerah lumbar (Nugroho, 2008). Perinciannya adalah sebagai berikut (Handayani & Endang, 2018) :

### 2.1.6.1.1. Skeleton Aksial

#### 1. *Ossa costales* (tulang rusuk)

Os costale (tulang rusuk) turut membentuk dinding ruang dada dari sebelah lateral. Tulang ini berpasangan di kiri dan kanan dinding dada dengan jumlah yang sama seperti *ossa vertebrae thoracicae*. Costae (tulang rusuk) adalah tulang panjang berbentuk melengkung dan membentuk rongga rusuk. Costae dibagi menjadi 3 bagian dan 13 pasang tulang rusuk yakni tujuh pasang di bagian depan, dan enam pasang di bagian belakang, 3 pasang terakhir adalah tulang rusuk yang mengambang. Costae berperan sebagai pelindung organ-organ penting di dalam thorax, seperti jantung dan paru-paru, saraf hingga peredaran darah (Olude *et al.*, 2013). Costae (tulang rusuk) menempel pada vertebrae (tulang punggung) bagian tengah. Vertebrae memiliki fungsi sebagai bukaan tempat keluarnya cabang jaringan saraf untuk menyampaikan pesan antara otak dan otot (Rohmani *et al.*, 2021). Fungsi lain dari tulang rusuk adalah membantu pernafasan, karena tulang rusuk melayang bekerja sama dengan tulang rusuk palsu untuk memberikan kebebasan dan memungkinkan adanya pengembangan pada bagian bawah tulang rusuk guna memberikan ruang gerak pada diafragma (Rahman, 2020).



**Gambar 2.1.6.1.1. Bagian-bagian tulang rusuk (costae)**

Bagian-bagian tulang rusuk adalah sebagai berikut :

- a. *Os costale*, bagian tulang rusuk yang terdapat di dorsal

- b. *Cartilago costalis*, bagian tulang rawan yang terdapat di ventral

Tulang rusuk yang pertama adalah tulang rusuk yang paling pendek. Panjang os costale bertambah mulai ke -1 sampai kira-kira ke-10 atau 11, kemudian ke caudal menjadi lebih pendek lagi. Os costale terakhir kira-kira sama panjangnya dengan yang ke-2.

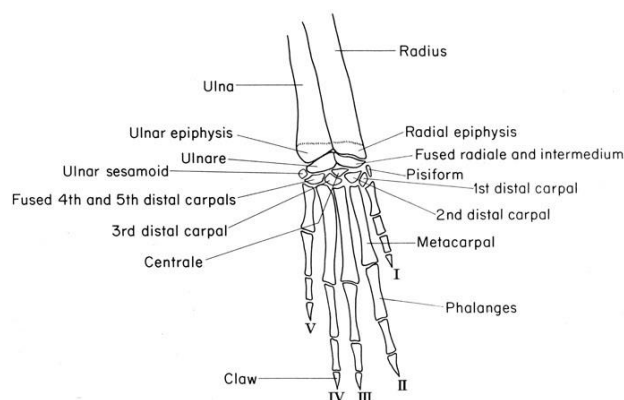
## 2. *Os sternum* (tulang dada)

Ujung depan dan belakangnya sebagian besar terdiri dari tulang rawan (bagian yang depan disebut *cariniform cartilago*, bagian yang belakang disebut *xiphoid cartilago*). Tulang dada merupakan ruas-ruas tulang sebanyak 6-8 ruas yang dihubungkan oleh tulang-tulang rawan. Bentuk tulang dada bervariasi, mengikuti rongga dada dan perkembangan tulang *clavicle*.

### 2.1.6.1.2. Skeleton Apendikular

#### 1. Skeleton manus (tulang-tulang telapak tangan)

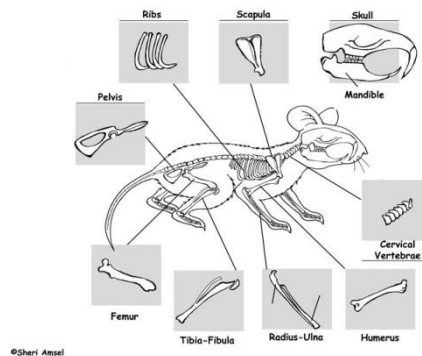
*Skeleton manus* (tulang-tulang telapak tangan) dapat dibagi menjadi *ossa carpi*, meliputi tulang-tulang carpi dan metacarpi dan *ossa digitorum manus*, terdiri atas tulang-tulang jari dan *ossa sesamoidea*. Jari dibentuk oleh tiga buah tulang yaitu *os phalanx proximalis* (prima) / *os compeedale* (tulang pergelangan), *os phalanx media* (secunda) / *os coronale* (tulang tajuk), *os phalanx distalis* (tertia) / *os ungulare*, *os unguiculare* (tulang kuku).



**Gambar 2.1.6.1.2.1. Anatomi tulang-tulang telapak tangan**

Secara keseluruhan, skeleton mencit normal terdiri atas (Adil dkk., 2005) :

1. Ekstremitas anterior dan posterior yang meliputi 5 digiti pada metakarpus dan metatarsus.
2. Costae, terdiri atas 7 pasang rusuk sejati (*costae verae*), 3 pasang rusuk palsu (*costae spuriae*), dan 2 pasang rusuk melayang (*costae flunctuates*).



**Gambar 2.1.6.1.2.2. Sistem skeletal mencit (*Mus musculus* L.) (Nugroho, 2008)**

#### 2.1.6.2. Proses Pembentukan Skeleton

Tulang adalah jaringan aktif yang secara metabolik mengalami remodeling secara kontinyu oleh dua proses, yaitu pembentukan (formasi) dan penyerapan (resorpsi) tulang (Seibel, 2005). Pertumbuhan skeleton merupakan salah satu parameter yang sering diamati untuk melihat ada tidaknya efek teratogenik suatu teratogen. Skeleton mempunyai fungsi sebagai penunjang, pelindung tubuh, dan sebagai tempat penyimpanan  $\text{Ca}^{2+}$ . Di samping itu, tulang merupakan tempat pertautan otot dan tendon sebagai alat gerak. Proses kalsifikasi tulang diawali dengan penimbunan garam kalsium pada serabut kolagen yaitu suatu proses yang diinduksi oleh proteoglikan dan glikoprotein yang mengikat kalsium berafinitas besar (Junqueira & Carneiro, 2005).

Siklus remodeling tulang dimulai dari perekrutan perkusor osteoklas yang kemudian berdiferensiasi menjadi osteoklas setelah menerima signal dari osteoblas. Osteoklas yang sudah matur mensintesis enzim proteolitik yang mencerna matriks kolagen dan terjadi proses resorpsi tulang yang merupakan tahap awal siklus remodeling. Fase selanjutnya dari siklus ini adalah osteoblas ditarik dari stem sel

mesenkim ke dalam sumsum tulang. Osteoblas yang sudah matur mensintesis matriks tulang terutama kolagen tipe I dan juga mengatur mineralisasi tulang baru. Selain itu, beberapa dari osteoblas tersebut akan terjebak dalam mineralisasi tulang yang kemudian menjadi osteosit (Thomas, 2012).

Allah ﷻ berfirman dalam Al-Qur'an surat Al-Infitar ayat 7 sebagai berikut :

﴿الَّذِي خَلَقَكَ فَسَوَّاكَ فَعَدَلَكَ﴾ (٧)

*Artinya : Yang telah menciptakan kamu lalu menyempurnakan kejadianmu dan menjadikan (susunan tubuh)mu seimbang (QS. Al-Infithar [2]:7).*

Menurut ayat tersebut terdapat kata kunci yakni susunan tubuh yang seimbang (فَعَدَلَكَ) . Pengertian tentang susunan tubuh yang seimbang terdapat dalam tafsir Zubdatut Tafsir Min Fathil Qadir (2009) adalah menjadikan tubuh manusia serasi, memiliki bentuk yang indah, dan menjadikan anggota badanmu sesuai dengan fungsinya. Kemudian dalam tafsir Li Yaddabbaru Ayatih (2009), seimbang berarti menempatkan anggota-anggota tubuh ini pada tempatnya yang tepat, dan telah mengatur kegunaannya masing-masing. Tafsir Al-Wajiz menyebutkan susunan tubuh yang seimbang maksudnya ialah Allah ﷻ yang membuatmu ada, yang menjadikan anggota tubuhmu lengkap sempurna dan berfungsi sempurna, sehingga engkau menjadi seimbang, dan ciptaan yang proporsional. Maka, dari ayat ini terkandung maksud Allah ﷻ telah menjadikan keseimbangan dalam tubuh manusia dengan proporsional, bentuk yang baik dan anggota badan lengkap serta berfungsi dengan baik. Misalnya, pada individu normal, siklus remodeling tulang berjalan seimbang kecuali pada tahap pertumbuhan yang dialami oleh anak-anak yaitu proses pembentukan berjalan lebih aktif daripada proses resorpsi. Dalam keadaan seperti ini tulang dapat merespon tekanan kondisi lingkungan yang disesuaikan dengan kekuatan mekanis yang dimiliki untuk mencegah resiko terjadinya fraktur (Sylvia & Loraine, 1995).

Berdasarkan asal embriologisnya osifikasi dibagi menjadi dua jenis yaitu osifikasi intramembran dan osifikasi endokondral (Leeson *et al.*, 1996 : Junqueira & Carneiro, 2005) :

#### **A. Osifikasi Intramembran**

Osifikasi intramembran berasal dari sel mesenkim yang berdiferensiasi menjadi osteoblas pada pusat osifikasi secara langsung tanpa melalui pembentukan kartilago terlebih dahulu. Selama proses osifikasi, sel-sel mesenkim berproliferasi ke area yang memiliki vaskularisasi tinggi pada jaringan penghubung embrionik dalam pembentukan pusat osifikasi primer. Sel-sel ini kemudian mensintesis matriks tulang di bagian periperal dan berlanjut hingga membentuk osteoblas. Setelah itu, tulang akan dibentuk lagi dan digantikan oleh struktur jaringan lamela dewasa. Osifikasi intramembran bertujuan untuk pembentukan tulang pipih, pertumbuhan tulang pendek, dan penebalan tulang panjang.

### **B. Osifikasi Endokondral**

Osifikasi endokondral merupakan proses mineralisasi jaringan tulang yang terbentuk melalui pembentukan kartilago terlebih dahulu. Proses terjadinya osifikasi ini secara tidak langsung melalui pembentukan tulang rawan terlebih dahulu yang kemudian akan berganti menjadi struktur tulang dewasa. Osifikasi ini terjadi pada pembentukan tulang panjang yang berawal dari pemanjangan dan perluasan kartilago melalui proliferasi kondrosit dan deposisi matriks kartilago. Selanjutnya, kondrosit yang berada di sentral kartilago mengalami pemasakan menuju hipertropik kondrosit. Setelah pusat osifikasi primer terbentuk maka rongga sumsum tulang akan meluas menuju ujung-ujung epifisis tulang rawan dan kondrosit tersusun dalam kolom-kolom memanjang pada tulang. Pada tahapan terakhir osifikasi ini berlangsung pada zona-zona tulang yang berlangsung secara berurutan.

#### **2.6.1.3. Faktor Faktor yang Mempengaruhi Pembentukan Tulang**

Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan tulang :

1. Herediter (genetik)

Tinggi badan anak secara umum bergantung pada orang tua, anak-anak dari orang tua yang tinggi biasanya mempunyai badan yang tinggi juga.

2. Faktor nutrisi

Suplai bahan makanan yang mengandung kalsium, fosfat, protein, vitamin A, C, D penting untuk generasi pertumbuhan tulang serta untuk memelihara rangka yang sehat.

3. Faktor endokrin

- a. Hormone paratiroid (PTH) satu sama lain saling berlawanan dalam memelihara kadar kalsium darah.
  - b. Tirokalsitonin, hormone yang dihasilkan dari sel-sel parafolikuler dari kelenjar tiroid, cara kerjanya menghambat resorpsi tulang.
  - c. Hormone pertumbuhan yang di hasilkan hipofise anterior penting untuk proliferasi (bertambah banyak) secara normal dari rawan epifisealis untuk memelihara tinggi badan yang normal dari seseorang.
  - d. Tiroksin bertanggung jawab untuk pertumbuhan tulang yang layak, remodeling tulang dan kematangan tulang.
4. Faktor persyarafan
- Gangguan suplai persyarafan mengakibatkan penipisan tulang seperti yang terlihat pada kelainan poliomyelitis.
5. Faktor mekanis
- Kekuatan dan arah dari tuberkula tulang ditentukan oleh gaya-gaya mekanis yang bekerja padanya.
6. Penyakit
- Penyakit mempunyai pengaruh yang kurang baik terhadap pertumbuhan tulang.

## **2.2. Fermentasi**

Fermentasi merupakan suatu proses perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Suprihatin, 2010). Fermentasi secara umum diartikan sebagai suatu proses konversi gula menjadi asam organik atau alkohol. Proses fermentasi telah lama dikenal manusia sejak dulu untuk mengawetkan dan meningkatkan cita rasa makanan. Istilah fermentasi digunakan pada proses yang melibatkan organisme seperti bakteri, yeast dan fungi untuk menghasilkan produk yang berguna bagi manusia. Produk fermentasi dari mikroorganisme dapat berupa metabolit primer, metabolit sekunder, produk rekombinan dan produk biotransformasi pada skala industri, contohnya teh kombucha (Nurhadiani dkk, 2018).

### **2.3.1. Teh Hijau (*Camellia sinensis*)**

### 2.3.1.1. Morfologi

Teh hijau (*Camelia sinensis*), anggota famili tehaceae adalah pohon atau perdu yang selalu hijau dengan ketinggian 10-15 m di alam liar dan 0,6 - 1,5 m saat dibudidayakan. Daun berwarna hijau muda, bertangkai pendek, coriaceous, berseling, lanset, tepi bergerigi, gundul atau puber di bawahnya, dengan panjang bervariasi dari 5 - 30 cm dan lebar sekitar 4 cm. Daun dewasa berwarna hijau cerah, halus dan kasar sedangkan daun muda puber. Bunganya berwarna putih dan harum, berdiameter 2,5-4 cm, ditemukan individu atau berkelompok dua atau empat. Bunga memiliki banyak benang sari dengan kepala sari berwarna kuning dan menghasilkan kapsul berwarna merah kecoklatan. Buah adalah kapsul bersel tiga berbentuk segitiga pipih, licin, bulat, biji soliter, ukuran sebesar kacang kecil (Mahmood *et al.*, 2010).



**Gambar 2.3.1.1.1. Morfologi daun teh hijau (*Camelia sinensis*)** (Hilal, 2017)

### 2.3.1.2. Taksonomi

Tanaman teh (*Camelia sinensis*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Backer & Brink, 1965):

|           |                                                |
|-----------|------------------------------------------------|
| Kingdom   | : Plantae                                      |
| Divisi    | : Spermatophyta (tumbuhan biji)                |
| Subdivisi | : Angiospermae (tumbuhan biji terbuka)         |
| Class     | : Dicotyledoneae (tumbuhan berkeping biji dua) |

Sub class : Dialypetalae  
 Ordo : Tehales  
 Family : Tehaceae  
 Genus : Camelia  
 Species : *Camelia sinensis*

#### **2.3.1.3. Asal**

Teh dengan nama ilmiah *Camellia sinensis* dari famili Tehaceae berasal dari Asia Tenggara, saat ini dibudidayakan di lebih dari 30 negara, termasuk India, Cina, Sri Lanka, Kenya, Indonesia, Turki, bekas Uni Soviet, Jepang, Iran, Bangladesh, Malawi, Vietnam, dan Argentina (Bedrood *et al.*, 2018).

#### **2.3.1.4. Kandungan**

Teh adalah salah satu minuman yang paling banyak dikonsumsi di seluruh dunia, dan tersedia dalam berbagai bentuk. Teh terdiri dari polifenol, kafein, mineral, dan sejumlah kecil vitamin, asam amino, dan karbohidrat. Teh hijau lebih kaya akan antioksidan dibandingkan dengan bentuk teh lainnya. Teh hijau mengandung katekin, sedangkan teh hitam mengandung tanin. Teh hijau dianggap sebagai sumber katekin yang paling dominan di antara semua sumber makanan, dibanding coklat, anggur merah, anggur, dan apel. Kafein dalam daun teh berkisar antara 2 dan 5%, tergantung pada usia daun, di mana daun yang lebih muda akan memiliki konsentrasi yang lebih tinggi (Prasant *et al.*, 2015).

#### **2.3.2. Kombucha**

Proses fermentasi banyak digunakan pada industri makanan, kimia, farmasi, dan pertanian. Berikut adalah beberapa produk yang dihasilkan dari proses fermentasi diantaranya produk makanan seperti yogurt, kefir dan keju dari susu, anggur dan cuka dari buah, bahan kimia seperti aseton, butanol, etanol dan asam amino serta pada bidang farmasi seperti vitamin dan obat-obatan (Nurhadianty dkk., 2018).



**Gambar 2.3.2 1. Kombucha SCOBY dalam teh** (Nurikasari *et al.*, 2017)

*Kombucha tea* (teh kombucha) merupakan produk minuman tradisional hasil fermentasi larutan teh dan gula dengan menggunakan starter mikroba kombucha (*Actobacter xylinum* dan beberapa jenis khamir atau ragi) dan difermentasi selama 8-12 hari. Teh kombucha berasal dari Asia Timur dan sampai di Jerman melalui Rusia sekitar akhir abad lalu (Winarsih, 2008). Teh ini terdiri dari dua fase: biofilm terapung dan fase cair asam. Asam asetat, asam glukonat, dan etanol merupakan komponen utama dalam cairan, tetapi juga di dalam biofilm karena kapasitas daya serap airnya yang bagus (Czaja *et al.*, 2006). Rasa minumannya sedikit asam dan sedikit berkarbonasi, yang diterima kebanyakan konsumen. Tidak hanya menggunakan teh, bahan yang digunakan juga bisa bervariasi dari infus mint, lemon atau melati (Leala *et al.*, 2018).

Kultur kombucha disebut SCOBY (*Symbiotic Colony of Bacteria and Yeast*) (Nurikasari *et al.*, 2017). SCOBY adalah biofilm mikroorganisme yang menyerupai tutup jamur, yang menjadi starter untuk minuman berikutnya (Kapp & Sumner, 2019). Popularitas Kombucha di seluruh dunia telah mengalami fluktuasi sejak Perang Dunia II. Sebagai contoh pada tahun 2016, ketika PepsiCo membeli KeVita, pembuat minuman probiotik dan kombucha fungsional yang populer. Pada tahun 2017, penjualan eceran kombucha dan minuman fermentasi lainnya meningkat 37,4% , dan pada tahun 2018, kombucha menunjukkan pertumbuhan dolar sebesar + 49% selama 52 minggu terakhir. Kombucha dilaporkan sebagai produk dengan

pertumbuhan tercepat di pasar minuman fungsional dan salah satu minuman fermentasi rendah alkohol yang paling populer di dunia (Bashcali, *et al*, 2017).

Kombucha berfungsi sebagai penyembuh terhadap berbagai macam penyakit ini telah digunakan berulang kali di rumah tangga di berbagai negara Asia. Selama proses fermentasi dan oksidasi berlangsung, terjadi bermacam-macam reaksi pada larutan teh manis. Jamur teh memakan gula, dan sebagai gantinya memproduksi zat-zat bermanfaat yang dalam minuman tersebut, seperti asam glukoronat, asam laktat, vitamin, asam amino, antibiotik, serta zat-zat lain. Oleh karena itu, jamur kombucha ini bagaikan sebuah pabrik biokimia mini. Dari beberapa penelitian, ditemukan bahwa kombucha sangat baik untuk mengobati sembelit, memperbaiki kondisi tubuh, bermanfaat melawan arteriosklerosis, memulihkan fungsi alat pencernaan, bermanfaat bagi penderita stres mental, menawarkan racun, dan membunuh kanker (Winarsih, 2008).

Terdapat jenis makanan yang sebenarnya makanan halal, tapi tidak mengikuti unsur thayib yang diamanatkan agama. Ketentuan thayib ini terdapat dalam ayat 168 Al-Qur'an Surah Al-Baqarah sebagai berikut :

﴿يَا أَيُّهَا النَّاسُ كُلُوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ مُبِينٌ﴾  
(١٦٨)

*Artinya: Hai sekalian manusia, makanlah yang halal lagi baik dari apa yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syaitan; karena sesungguhnya syaitan itu adalah musuh yang nyata bagimu (QS. Al-Baqarah [2]:168)*

Syarat makanan yang dimaksud di dalam ayat di atas adalah halal dan baik (حَلَالًا طَيِّبًا), terdapat dalam tafsir Al Muyassar (2007) bahwa makanan yang halal dan baik adalah makanlah dari rizki Allah ﷻ yang dia halalkan bagi kalian yang terdapat di bumi, dalam keadaan bersih dan bukan najis, yang bermanfaat dan tidak memadorotkan. Sedangkan dalam Zubdatut Tafsir Min Fathil Qadir (2007), yakni selain yang diharamkan oleh Allah ﷻ dan thayyib artinya yang dinikmati. Kemudian menurut Aisarut Tafasir (2015), adalah segala sesuatu yang tidak membahayakan, dan itu adalah segala sesuatu yang Allah ﷻ izinkan untuk dimanfaatkan serta sesuatu yang suci, tidak najis, dan tidak menjijikkan yang tidak disukai oleh jiwa. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa unsur halal dan baik

bagi makanan adalah makanan yang bersih, tidak najis, bermanfaat dan tidak memadhorotkan, tidak membahayakan dan tidak diharamkan oleh Allah ﷻ.

Jika makanan tersebut membahayakan kesehatan, maka unsur halal dan baik (حَالَالٌ طَيِّبٌ) menjadi belum terpenuhi. Salah satu faktor eksternal yang mempengaruhi makanan atau minuman yang tidak cocok untuk tubuh dalam jangka panjang adalah adanya alkohol (Inoue *et al.* , 2012). Berdasarkan “Muzakarah Alkohol Dalam Minuman” di MUI pada tahun 1993, minuman beralkohol (*alcoholic beverage*) adalah minuman yang mengandung alkohol (etanol) yang dibuat secara fermentasi dari jenis bahan baku nabati yang mengandung karbohidrat, seperti biji-bijian, buah-buahan, dan nira, atau yang dibuat dengan cara distilasi hasil fermentasi yang termasuk di dalamnya adalah minuman keras klasifikasi A, B, dan C (Per. Menkes No. 86/ 1977).

Al-Qardawi (2008) menyatakan bahwa, keberadaan alkohol dalam proporsi 5 per seribu (0,5 persen) tidak dilarang, khususnya ketika dihasilkan dari fermentasi alami, tidak ada yang salah dengan mengkonsumsi produk (termasuk obat-obatan) yang mengandung kadar alkohol tidak melebihi 0,5%.

Alkohol yang diperoleh dari proses fermentasi atau destilasi buah-buahan, gandum, jagung dan lainnya dimanfaatkan untuk berbagai keperluan, di antaranya adalah sebagai campuran dalam minuman keras atau yang dikenal dengan khamar. Selain itu alkohol juga digunakan dalam bidang farmasi untuk sterilisasi dan sebagai bahan pembantu dalam produksi obat-obatan. Hasil dari produksi ini kadangkala masih mengandung alkohol, baik itu dengan kadar yang sedikit maupun banyak (Muti, 2004). Jika demikian maka produk tersebut adalah haram untuk dikonsumsi karena berapapun kadar alkohol dalam suatu produk maka hukumnya diharamkan (Kemenag Indonesia, 2003). Anggur obat, anggur kolesom, arak obat dan minuman-minuman sejenis yang mengandung alkohol dikategorikan sebagai minuman beralkohol. Apabila suatu minuman sudah dikategorikan sebagai minuman beralkohol, berapapun kadar alkoholnya, maka statusnya haram bagi umat Islam. Untuk memvonis keharamannya, setidaknya makanan itu harus benar-benar telah menjadi khamar dalam arti berpengaruh kepada kesadaran dan otak (Al-Alamah, 1997).

Selama penelitian sejauh ini, kombucha adalah produk hasil fermentasi dan oksidasi. Oleh karena itu walaupun kombucha mengandung alkohol dan kadarnya tergolong rendah, hal ini perlu perhatian lebih lanjut. Kombucha dapat dikategorikan haram disebabkan, LP POM MUI belum mengeluarkan label halal pada produk ini. Dalam sebuah hadist, Islam mengarahkan untuk tidak melakukan pada hal yang bersifat ragu (*shubhat*).

عَنْ أَبِي مُحَمَّدٍ الْحَسَنِ بْنِ عَلِيٍّ بْنِ أَبِي طَالِبٍ سِبْطِ رَسُولِ اللَّهِ ﷺ وَرِيحَانَتِهِ ﷺ قَالَ: حَفِظْتُ مِنْ رَسُولِ اللَّهِ ﷺ: (دَعْ مَا يَرْتَبِكُ إِلَى مَا لَا يَرْتَبِكُ)

Artinya: Bersumber dari Abu Muhammad Hasan bin Ali bin Abi Thali – cucu Rasulullah dan bunga wangi (kesayangan) beliau— semoga Allah senantiasa meridai mereka. Ia berkata, “Aku hafal dari Rasulullah SAW (perkataan), “Tinggalkan yang meragukanmu menuju pada yang tidak meragukanmu.” (HR. Tirmidzi dan Nasa’i)

Kata kunci yang diambil dalam hadist ini adalah kata دَعْ (tinggalkanlah), مَا (sesuatu yang meragukanmu) dan لَا يَرْتَبِكُ (sesuatu yang tidak meragukanmu).

Hadist ini berisi tentang pentingnya seorang muslim bersikap wara’ (hati-hati). Hadist tersebut diambil dari Kitab Arbain (2009), menurut tafsir Jami’ Al Ulum Wal Hikam (2010), bentuk wara adalah meninggalkan sesuatu yang ragu-ragu dan mengambil sesuatu yang tidak meragukan. Secara umum, makna hadits ini adalah berisi anjuran langsung meninggalkan ketika dihadapkan pada suatu hal yang meragukan. Kemudian pilih apa yang meyakinkan pikiran. Hal ini bisa terjadi dalam ibadah, muamalah (interaksi sosial), perkawinan, dan berbagai bidang ilmu.

### 2.3.3. Pengaruh Teh Hijau Kombucha terhadap Costae dan Metakarpal Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus*)

Kombucha adalah minuman fermentasi yang dibuat dari campuran teh dan gula dengan bakteri dan ragi. Ketika produk ini mengandung alkohol lebih dari 0,5% (v/v), batas hukum untuk minuman non-alkohol, mereka diklasifikasikan sebagai minuman beralkohol dan tunduk pada peraturan federal dan peraturan negara (Talebi *et al.*, 2017). Teh hijau telah diketahui sebagai minuman yang meningkatkan kesehatan, dan efek menguntungkan terkait dengan kandungan polifenolnya, yakni katekin dan aktivitas antioksidannya. Teh hijau mengandung

lebih banyak katekin daripada teh hitam atau oolong teh. Katekin dikenal sebagai antioksidan yang tinggi (Vishnoi *et al.*, 2018). Senyawa polifenol merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat (Cabrera *et al.*, 2003). Salah satu kombucha yang memiliki kadar polifenol yang tinggi adalah yang berasal dari teh hijau yang mengandung kadar polifenol 30-40% lebih tinggi dibanding teh hitam sebanyak 10% (Zowail *et al.*, 2009). Polifenol yang terkandung dalam teh kombucha juga berfungsi sebagai zat antikanker dengan menghambat mekanisme pembentukan kanker seperti mutasi gen dan proliferasi sel kanker (Conney *et al.*, 2002).

Seperti yang diketahui dalam keterangan Sayed *et al.* (2005), konsumsi alkohol akan menurunkan produksi asam amino dan glikogen di otot rangka. Menurut Vall *et al.* (2017), konsumsi alkohol selama kehamilan, dapat mengakibatkan efek teratogenik yang dapat menyebabkan bayi baru lahir didiagnosis menderita *Fetal Alcohol Spectrum Disorder* (FASD) atau *Fetal Alcohol Syndrome* (FAS). Hal ini menyebabkan kerusakan otak dan masalah pertumbuhan. Selain itu, kualitas tulang tulang kortikal dan tulang trabekular dapat mengalami penurunan oleh alkohol (Choi *et al.*, 2017). Kandungan asam glukoronat yang bersifat detoksifikasi (membersihkan) sehingga dimungkinkan bahan-bahan bermanfaat akan terpaksa dikeluarkan dari tubuh (Kole *et al.*, 2009). Kandungan kafein dalam kombucha dosis di atas 300 mg/hari diduga dapat menyebabkan kerusakan tulang pada ibu hamil, contohnya abnormalitas (Dillasamola *et al.*, 2017).

### **2.3. Definisi Pertumbuhan dan Perkembangan**

#### **2.3.1. Definisi Pertumbuhan dan Karakteristik Pertumbuhan Makhluk Hidup**

Pertumbuhan memiliki kata asal “tumbuh”. Sehingga secara istilah, pertumbuhan memiliki pengertian perubahan secara kuantitatif pada fisik manusia karena beberapa faktor (faktor internal dan eksternal). Perubahan kuantitatif sendiri dapat di ukur atau dinyatakan dalam satuan serta dapat diamati secara jelas. Misalnya berupa pertambahan, pembesaran, perubahan ukuran dan bentuk, hal yang tidak ada menjadi ada, kecil menjadi besar, sedikit menjadi banyak, pendek menjadi tinggi, serta kurus menjadi gemuk (Soemanto, 1990).

Faktor pertumbuhan ada dua yakni faktor internal meliputi gen, sel, atom, kromosom atau gizi. Kemudian yang kedua adalah faktor eksternal meliputi lingkungan sekitar baik pola hidup maupun olahraga. Kedua faktor tersebut sama-sama berpengaruh dalam proses pertumbuhan seseorang. Ketika yang optimal hanya salah satu faktor, maka hasil pertumbuhan akan kurang maksimal. Sedangkan ketika kedua faktor tersebut dapat berjalan beriringan dan maksimal, maka pertumbuhan seseorang juga akan berjalan maksimal (Fahyuni, 2018).

Karakteristik pertumbuhan adalah adanya perubahan secara kuantitas meliputi jumlah, ukuran, bentuk, luas, tinggi serta berat pada fisik makhluk hidup. Selain itu, setiap anak telah mengalami pertumbuhan sejak bertemunya setelur dengan sel ovum dalam kandungan induk sampai batas usia tertentu, secara berangsur-angsur. Setiap anak mengalami fase-fase pertumbuhan yang berbeda tetapi perbedaan tersebut tidak terlalu mencolok ketika sang anak masuk kategori “normal” atau tidak berkebutuhan khusus terkait gen atau sel. Perubahan pada pertumbuhan dapat diamati atau dianalisis menggunakan alat ukur (timbangan untuk berat badan, alat ukur tinggi badan untuk mengetahui perubahan tinggi badan) serta dapat dinyatakan dalam bentuk huruf atau satuan (Fahyuni, 2018).

### **2.3.2. Definisi Perkembangan dan Karakteristik Perkembangan Makhluk Hidup**

Perkembangan tentu memiliki perbedaan dengan pertumbuhan. Ketika pertumbuhan identik dengan perubahan secara kuantitatif, maka perkembangan sendiri identik dengan perubahan secara kualitatif. Biologi perkembangan adalah ilmu yang menyelidiki bagaimana berbagai proses yang berinteraksi menghasilkan bentuk, ukuran, dan fitur struktural organisme yang heterogen yang muncul pada lintasan dari embrio hingga dewasa, atau lebih umum sepanjang siklus hidup (Love 2008; Minelli 2011). Perkembangan juga dapat diartikan sebagai akibat dari perubahan kematangan dan kesiapan fisik yang memiliki potensi untuk melakukan suatu aktivitas, sehingga individu telah mempunyai suatu pengalaman. Dengan pengalaman ini, ia akan dapat melakukan suatu aktivitas yang sama dalam waktu mendatang. Tolak ukur untuk melihat adanya perkembangan seseorang individu ialah pada aspek kemampuan yang dimiliki sesuai dengan tahap perkembangannya. Cara dengan membandingkan keadaan satu fase dengan fase

berikutnya. Apabila terjadi perbedaan dari fase sesudahnya lebih baik dari fase sebelumnya, maka individu telah mengalami fase perkembangan (Hidayati, 2017)

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen karena adanya pengamatan terhadap kemungkinan pengaruh dengan memberikan perlakuan dan pengulangan. Data diolah menggunakan analisis deskriptif kuantitatif. Hal ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh teh kombucha jenis teh hijau (*Camelia sinensis*) terhadap pertumbuhan dan perkembangan skeleton pada fetus mencit (*Mus musculus*) secara *In Vivo*. Perlakuan terdiri dari kontrol (tanpa perlakuan), kontrol negatif dan perlakuan yang memberikan teh hijau kombucha dengan 3 dosis berbeda.

### **3.2. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dengan judul “Pengaruh Teh Hijau Kombucha (*Camellia sinensis*) Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Costae dan Metakarpal Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus*) secara *In Vivo*” dilaksanakan pada tanggal 11 November 2021 - 30 Maret 2021 bertempat di Laboratorium Fisiologi Hewan, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

### **3.3. Alat dan Bahan**

#### **3.3.1. Alat-Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat bedah, kandang mencit, tempat minum, wadah pakan, mikroskop cahaya, mikroskop stereo, APD, ponsel genggam, alat tulis, timbangan/neraca analitik, papan bedah, sonde lambung ukuran 1 ml, pipet tetes, *object glass*, *cover glass*, cawan petri ukuran 15 x 2,5 cm, penggaris, jarum dan pentul, kertas saring, alat bedah, corong ukur, gelas ukur, botol selai, gelas beker.

#### **3.3.2. Bahan-Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah indukan mencit (*Mus musculus*) betina sebanyak 32 ekor dan jantan sebanyak 32 ekor dengan berat 18-35 g, minuman instan teh kombucha, sekam, kertas *milimeter block*, aquades, alkohol 70%, NaCl 0,9 %, pewarna giemsa, pewarna alizarin red S, KOH 1%, gliserin.

### 3.4. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini meliputi :

1. Variabel bebas : teh kombucha berbagai dosis, diantaranya P1/kontrol = tanpa perlakuan apapun (normal), P2/kontrol negatif = kelompok perlakuan yang diberi alkohol 0,56 ml/20 g, BB P3 = kelompok perlakuan yang diberi teh kombucha (0,26 ml/20 g BB), P4 = kelompok perlakuan yang diberi teh kombucha (0,39 ml/g BB), dan P3 = kelompok perlakuan 3 yang diberi teh kombucha ( 0,52 ml/20g BB).
2. Variabel terikat : pertumbuhan dan perkembangan skeleton fetus berupa pengamatan kecacatan pada struktur skeleton meliputi jumlah ruas penulangan dan malformasi metakarpus dan costae.
3. Variabel kontrol : jenis mencit yang digunakan adalah indukan mencit (*Mus musculus*) betina umur 6-8 minggu dan jantan galur Swiss berumur 12 minggu dengan berat badan 18-35 gr siap kawin. Pengamatan pada penelitian berupa skeleton fetus mencit (*Mus musculus*) yang telah diberi teratogen hari ke 6-15 sebanyak 1 kali sehari dan diambil usia 18 hari.

### 3.5. Populasi dan Sampel

Populasi : mencit (*Mus musculus*) betina strain Swiss berusia 6-8 minggu dengan berat badan 18-35 gram. Mencit strain Swiss merupakan galur mencit yang umum dipakai untuk berbagai jenis penelitian. Umumnya mencit strain ini berwarna putih (albino) (Nugroho, 2008). Ciri-ciri dari strain ini adalah agresi antar strain rendah (Southwick & Clark, 1966), kemampuan penghindaran tinggi (Royce, 1972), rentang hidup dalam kondisi alami menengah pada jantan (14/22 = 616 hari) dan pendek pada betina (7/22 = 496 hari) (Storer, 1966) serta rasio otak/berat badan yang besar (Roderick *et al.*, 1973).

Sampel : sampel yang digunakan skeleton fetus (*Mus musculus*), jumlah sampel yang digunakan berdasarkan rumus Federer (Wahyuningrum dan Probosari, 2012).

$$(r-1)(t-1) \geq 15$$

r = ulangan

$$(r-1)(4-1) \geq 15$$

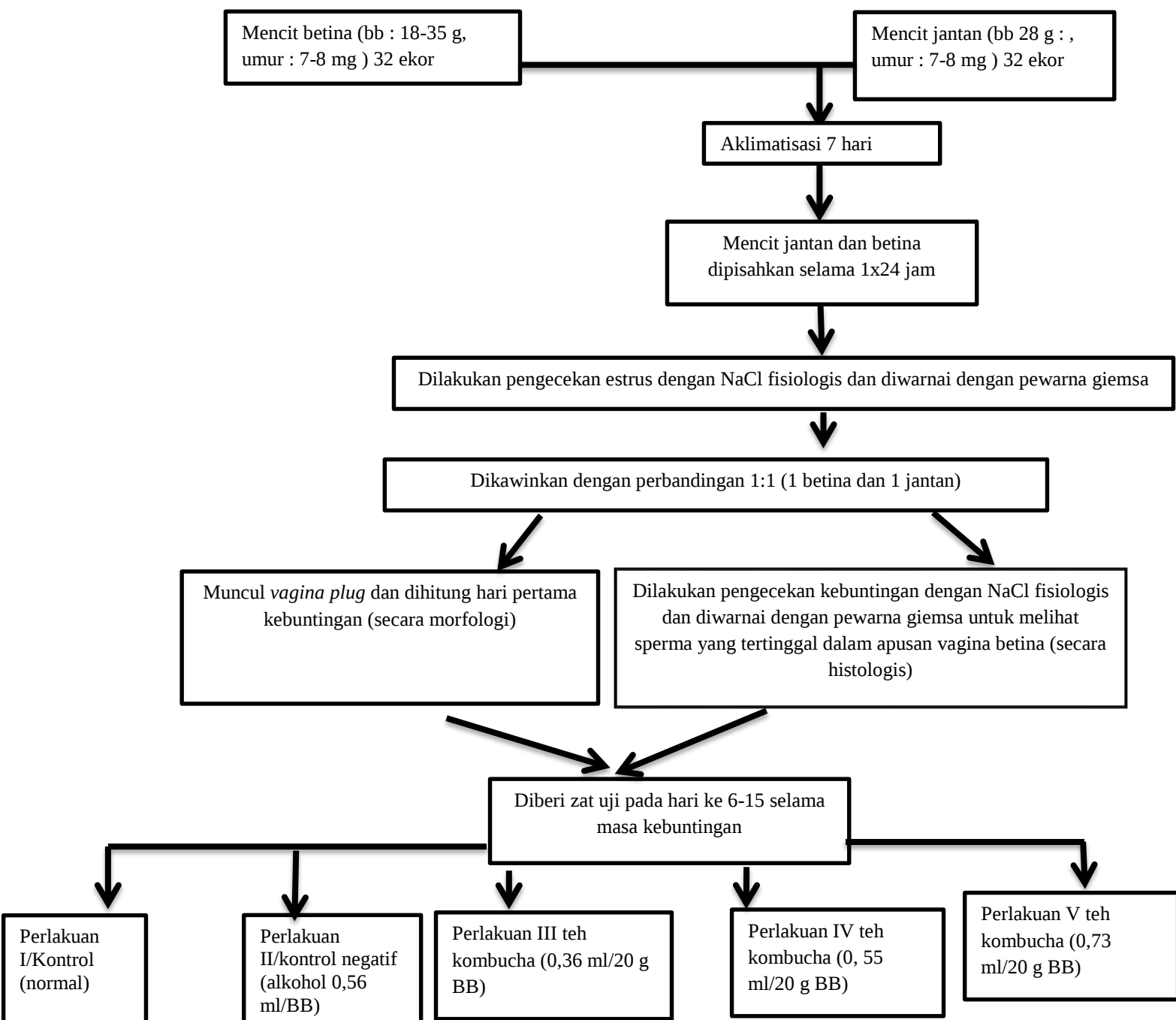
t = jumlah perlakuan

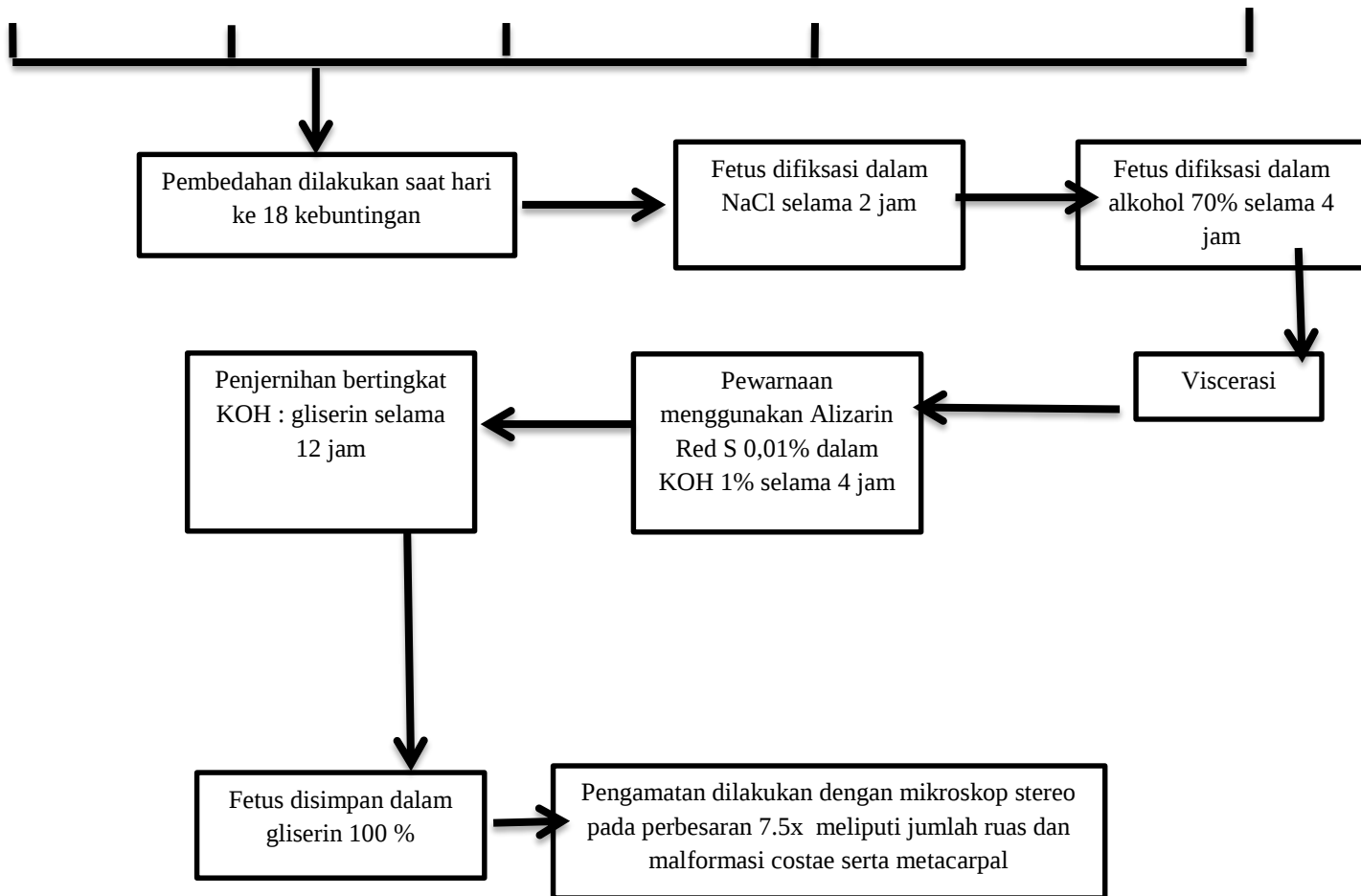
$$3r-3 \geq 15$$

$$r \geq 6$$

### 3.6. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian mengenai pengaruh teh hijau (*Camelia sinensis*) kombucha terhadap pertumbuhan dan perkembangan skeleton fetus mencit (*Mus musculus*) secara in vivo digambarkan dalam skema tahap penelitian sebagai berikut :





**Gambar 3.6. 1. Skema tahap penelitian**

Skema tahap penelitian pada gambar 10 tersebut menjelaskan terdapat 8 tahap yakni penyiapan mencit, pengamatan siklus estrus, perkawinan mencit, masa kebuntingan, pembuatan teh kombucha, pemberian zat uji pada mencit bunting, perlakuan hewan uji, dan pembedahan induk mencit.

### 3.6.1. Penyiapan Mencit (Aklimatisasi dan Sinkronisasi Estrus)

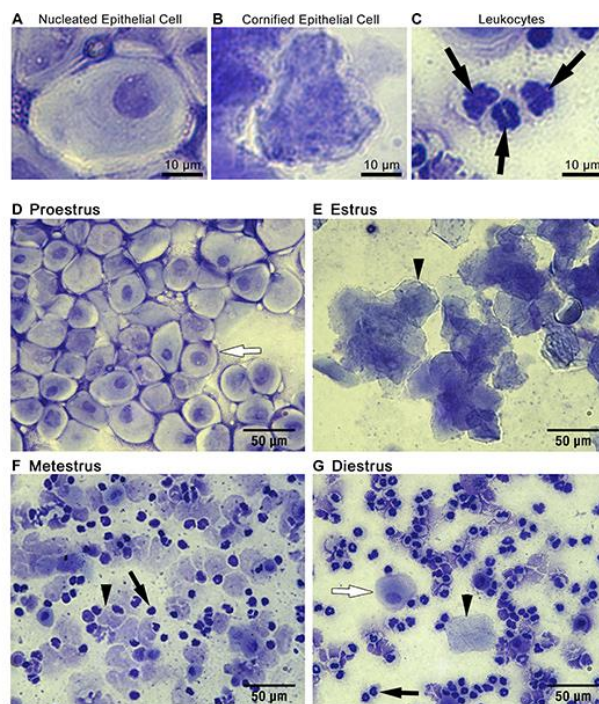
Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) betina galur Swiss berukuran 18-35 gram berumur 6-8 minggu (Ridwan *et al.*, 2020 ; Sutomo *et al.*, 2015 ; Saini *et al.*, 2013). Mencit strain Swiss-Webster merupakan galur mencit yang umum dipakai untuk berbagai jenis penelitian dan memiliki sistem imun yang mirip manusia, sehingga strain betina sering digunakan dalam testing berbagai obat-obatan (Nugroho, 2008). Ciri mencit yang sehat ditandai dengan bulu halus berwarna putih bersih, tidak berdiri dan berekor merah muda, mata jernih bersinar, serta berat badan bertambah atau tidak berkurang setiap harinya (Erwin dkk, 2012 ; Burkholder *et al.*, 2012). Ciri-ciri khas strain ini adalah berwarna putih (albino), agresi antar strain rendah (Southwick & Clark, 1966), kemampuan penghindaran tinggi (Royce, 1972), rentang hidup dalam kondisi alami menengah pada jantan ( $14/22 = 616$  hari) dan pendek pada betina ( $7/22 = 496$  hari) (Storer, 1966) serta rasio otak/berat badan yang besar (Roderick *et al.*, 1973).

Sebelum perlakuan, mencit (*Mus musculus*) diaklimatisasi selama 1 minggu dengan suhu ruangan 25 °C dan siklus terang-gelap 12:12 jam dengan pemberian air dan pakan secara bebas (*ad libitum*) (Nurchayani *et al.*, 2017 ; Damayana *et al.*, 2019). Mencit dinyatakan lulus aklimatisasi apabila berat badan tidak bertambah atau berkurang. Hal ini didukung oleh Hasanah (2015), Aklimatisasi adalah pemeliharaan hewan coba dengan tujuan adaptasi terhadap lingkungan baru. Aklimatisasi dilakukan di laboratorium selama 1 minggu, apabila terdapat hewan coba yang sakit atau mati, atau BB turun  $> 10\%$ , maka akan dikeluarkan dari penelitian.

### 3.6.2. Pengamatan Siklus Estrus

Pengamatan siklus estrus mencit (*Mus musculus*) menggunakan metode visual dan ulasan vagina (*vaginal smear*). Metode visual dilakukan dengan mengamati vagina mencit, sedangkan ulasan vagina dilakukan dengan cara memasukkan NaCl 0,9% melalui pipet dan meneteskan ke dalam kaca objek untuk diperiksa secara mikroskopis dan diwarnai dengan giemsa. Fase proestrus yang dominan adalah sel epitel berinti, fase metestrus dan diestrus adalah leukosit (MacLean *et al.*, 2012). Ciri-ciri morfologis mencit estrus adalah pada fase estrus,

vagina tampak mirip dengan proestrus, tetapi warnanya kurang merah muda, kurang lembab tetapi vulva lebih terlihat. Sedangkan secara histologis, adanya sel epitel kornifikasi yang melimpah (Ekarambam *et al*, 2017 ; Nugroho, 2018 ; Al-Fartosi *et al.*, 2012). Fase-fase ini ditunjukkan dalam gambar sebagai berikut :



**Gambar 3.6. 2. Tiga jenis sel utama dalam sampel apusan vagina:** (a.) sel epitel berinti, (b.) sel epitel skuamosa (pipih) kornifikasi, dan (c.) leukosit. Panah hitam di E, F dan G menunjuk ke sel epitel pipih/squamosa kornifikasi. Panah hitam di C, F dan G menunjuk ke leukosit. Panah putih di D dan G menyoroti sel epitel berinti. Fase estrus menunjukkan sel squamosa lebih dominan dibanding fase proestrus, metestrus dan diestrus (McLean *et al.*, 2012)

### 3.6.3. Perkawinan Mencit

Apabila mencit (*Mus musculus*) telah dinyatakan estrus berdasarkan ciri-ciri pada pengamatan sebelumnya maka dapat diteruskan ke tahap perkawinan. Mencit betina yang akan disinkronisasi ditempatkan dalam kandang bersekat untuk memisahkan mencit betina dari mencit jantan. Sinkronisasi dengan menggunakan metode Efek Whitten dilakukan selama tiga hari. Pada hari keempat masing-masing mencit betina dipindahkan ke dalam kandang individu untuk dikawinkan dengan

mencit jantan dengan perbandingan jantan dan betina 1:1 (*single mating*) (Maria dkk., 2014). Kemudian, diamati naiknya mencit jantan kepada betina secara bersamaan (Fadilah dkk., 2017).

#### **3.6.4. Masa Kehamilan/Kebuntingan**

Setelah dilakukan pengawinan, dilakukanlah pengecekan pada esok harinya. Ciri-ciri kebuntingan pada mencit (*Mus musculus*) adalah terdapat sumbat vagina (*copulatory/vagina plug*), yakni sumbat berwarna kekuningan yang berasal dari sekresi kelenjar mencit jantan. Setelah muncul *vaginal plug*, kehamilan dapat dihitung sebagai G-0 (0 hari) (Ridwan *et al.*, 2020 ; Damayana *et al.*, 2019). Mencit betina yang mengalami kebuntingan dapat ditempatkan di kandang terpisah dengan mencit jantan (Almahdy, 2004).

Apabila tidak terdapat *vaginal plug*, maka dapat dilakukan pengecekan siklus estrus ulang secara *vaginal smear* (apusan vagina). Jika estrus maka dilakukan perkawinan ulang.

#### **E. Pemberian Zat Uji kepada Mencit (*Mus musculus*) Bunting**

Teh kombucha sebagai zat uji diberikan secara oral kepada mencit (*Mus musculus*) bunting selama 10 hari saat organogenesis (G-6 sampai G-15) (Nurchayani *et al.*, 2017 ; Ridwan *et al.*, 2020 ; Damayana *et al.*, 2019). Kapasitas maksimal dosis lambung mencit 20 g yaitu 1 mL sehingga pemberian dosis teh tidak melebihi kapasitas maksimal lambung mencit (Silviana dkk., 2021). Pemberian teratogen dilakukan sehari sekali sesuai dosis. Setiap perlakuan dikelompokkan menjadi 5 kelompok dan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali dalam setiap kelompok.

Dosis pemberian teh kombucha untuk dewasa (18 tahun ke atas dengan BB 50 kg adalah 1 gelas (200 ml) (Naland, 2004). Kemudian berdasarkan dosis tersebut ditetapkan empat tingkatan dosis yaitu P1=kontrol (normal), P3= 150 ml/50 kg BB, P4= 200 ml/50 kg BB. Konversi berat badan mencit 20 g dengan berat badan manusia 70 kg adalah 0,0026 (Laurence & Bacharah, 1964).

Kemudian, dilakukan uji analisis kandungan alkohol pada teh kombucha untuk mengetahui kadar alkoholnya. Berdasarkan hasil lab didapatkan kandungan alkohol yaitu 0,56 ml/BB (lampiran 1). Dengan demikian, dibuat kontrol negatif

untuk membuat perbandingan antara alkohol di dalam kombucha dan alkohol murni.

Dengan demikian, zat uji dibuat dalam 4 tingkatan dosis dengan pembagian kelompok dan dosis sebagai berikut :

K (kontrol) = kelompok kontrol tanpa diberi apapun (normal)

P1 = kelompok perlakuan 1 yang diberi teh kombucha (0,36 ml/20g BB)

P2 = kelompok perlakuan 2 yang diberi teh kombucha (0,55 ml/20g BB)

P3 = kelompok perlakuan 3 yang diberi teh kombucha (0,73 ml/20g BB)

### **Perhitungan Dosis**

Diketahui berat rata-rata mencit = 25g.

1. Pemberian dosis dewasa dengan berat 50 kg adalah sebanyak 200 mL (Naland, 2004). Pemberian teh kombucha pada ibu hamil untuk mengetahui batas keamanan mengkonsumsi teh kombucha maka dilakukan 3 percobaan dosis (dosis 200 ml, dosis 150 ml dan dosis 100 ml) dari berat 50 kg yang kemudian dikonversikan ke berat 70 kg sesuai dengan berat rata-rata ibu hamil maka didapatkan hasil:

a. dosis dewasa = 200 mL /50 kg BB → dikonversi ke 70 kg BB

$$\frac{50}{70} = \frac{200}{x}$$

$$14000 = 50x$$

$$x = 280 \text{ ml}$$

b. dosis dewasa = 150 mL /50 kg BB → dikonversi ke 70 kg BB

$$\frac{50}{70} = \frac{150}{x}$$

$$50x = 10500$$

$$x = 210 \text{ mL}$$

c. dosis dewasa = 100 mL /50 kg BB → dikonversi ke 70kg BB

$$\frac{50}{70} = \frac{100}{x}$$

$$50x = 7000$$

$$x = 140 \text{ ml}$$

2. Kemudian dosis konversi dari manusia 70 kg BB → mencit (0,0026) akan didapatkan perhitungan sebagai berikut :

a.  $0,0026 \times 280\text{ml} = 0,728\text{ml}$  (0,73 mL)

b.  $0,0026 \times 210\text{ml} = 0,546\text{ml}$  (0,55 mL)

c.  $0,0026 \times 140\text{ml} = 0,364\text{ml}$  (0,36 mL)

#### 3.6.4. Pembedahan Induk Mencit

Induk mencit dibedah pada hari kedelapan belas (G-18) sebelum kelahiran untuk diambil fetusnya dari uterus (Busman dkk., 2021 ; Nugroho & Sudiastuti, 2018, Anfiandi, 2013). Masa gestasi atau masa kehamilan mencit umumnya sekitar 19-21 hari (Nugroho, 2008). Pembedahan dilakukan dengan cara mencit ditelentangkan pada meja operasi berupa nampan yang telah diberi parafin padat. Mencit dibuat terlentang dengan tujuan supaya tidak bergeser. Telapak kaki depan dan belakangnya disematkan dengan jarum pentul. Selanjutnya dilakukan penyayatan (inisiasi) mulai dari dinding abdomen, memotong kulit dan muskulusnya, irisan dilanjutkan ke sisi kanan dan kiri (pola T terbalik). Kulit dibuka perlahan pada area uterus untuk mengambil janin mencit (*Mus musculus*) (Nugroho, 2008).

Secara struktur anatomi sistem reproduksi mencit (*Mus musculus*) memiliki kesamaan dengan manusia meskipun sedikit berbeda pada bagian uterus pada manusia menyatu sedangkan pada mencit membentuk tanduk (bercabang) (Cunha *et al.*, 2019). Tahap selanjutnya, fetus dibersihkan dari cairan amnion yang menyelubunginya. Fetus difiksasi dalam alkohol 70% selama 2 x 24 jam pada suhu 37 °C. Kemudian dilakukan viscerasi, yaitu membuang kulit, *viscera*, dan jaringan lemak pada fetus, selanjutnya dilakukan pewarnaan (Kenedi, 2020 ; Astuti dkk., 2019).

Setelah itu, dilakukan pewarnaan tulang menggunakan Alizarin Red S 0,01% dalam KOH 1% selama 90 menit bersuhu 37 °C, dilakukan penjernihan menggunakan KOH 2% selama 24 jam hingga badan fetus terlihat bening. Terakhir adalah penjernihan bertingkat KOH : gliserin (3:1, 1:1, 1:3) masing-masing selama 12 jam agar jaringan yang membungkus skeleton menjadi transparan, dan yang berwarna hanya pada jaringan tulang (Kanedi, 2020 ; Astuti dkk., 2019). Fetus disimpan dalam gliserin 100% untuk disimpan dan diamati penyerapan warnanya. Pengukuran skeleton menggunakan mikroskop stereo. Tulang keras akan berwarna merah (Christiani dkk., 2016).

Pengamatan yang dilakukan meliputi pertumbuhan dan perkembangan skeleton fetus berupa pengamatan ada atau tidaknya osifikasi (warna merah/biru pada skeleton) serta ada tidaknya kecacatan pada struktur meliputi jumlah ruas penulangan (metakarpus, metatarsus, dan vertebrae caudalis) serta malformasi costae, sternbrae, dan vertebrae (Setyawati & Yulihastuti, 2011).

#### **3.6.5. Teknik Pengolahan dan Analisis Data**

Data yang diambil berupa data kuantitatif yaitu pertumbuhan dan perkembangan skeleton fetus berupa pengamatan ada tidaknya kecacatan pada struktur skeleton meliputi jumlah ruas penulangan (metakarpus dan costae) serta malformasi costae. Pada hasil kecacatan skeleton fetus secara fisik (morfologi) dijelaskan secara deskriptif dari beberapa literatur yang ada.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1. Pengaruh Teh Hijau Kombucha (*Camelia sinensis*) terhadap Jumlah Ruas Costae Fluktuantes dan Metakarpal Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus*) secara *In Vivo***

Tulang adalah bagian penting yang menopang tubuh. Menurut Sherwood (2010), tulang terdiri dari campuran kolagen dan mineral yang disebut hidroksiapatit, yang bersama-sama membentuk struktur, fleksibilitas dan kekuatan tulang. Tulang terbentuk dari sekitar 30 persen bahan organik, dan 95 persen penyusun bahan tersebut adalah kolagen. Berdasarkan Eluwa *et al* (2010), tulang juga merupakan jaringan aktif dan rentan terhadap efek samping dan faktor luar seperti alkohol, rokok, kekurangan nutrisi, kurang olahraga dan kecelakaan. Menurut sumber lain, faktor-faktor itu menyerang pada bahan penyusun tulang yakni kalsium dan fosfor (Waters *et al.*, 2018), salah satunya adalah alkohol dapat mengurangi panjang dan jumlah ruas pada tulang janin (Mahon *et al.*, 2010).

Kendati demikian, paparan alkohol berlebihan selama kehamilan menghasilkan perbedaan efek tergantung dosis pada stres maksimum yang diserap oleh tulang janin (Ioannou *et al.*, 2012). Berdasarkan penelitian Setyawati & Yulihastuti, (2011) bahwa pemberian etanol dengan dosis 80% (0,8 ml) dapat menyebabkan penurunan jumlah ruas metakarpus dan malformasi costae fetus mencit. Selain itu penelitian Keiver & Weinberg (2004) menyatakan pada dosis 0,36 ml konsumsi etanol maternal membuat malformasi bentuk tulang dan menurunkan perkembangan ruas tulang janin. Pada penelitian lain yakni Samsinar (2018), menyatakan bahwa pemberian tuak dengan kadar alkohol 35% sebanyak 0,3 ml mengakibatkan penurunan panjang pada tulang fetus mencit. Dengan demikian, dapat dilihat bahwa dosis-dosis tersebut dapat memberikan efek yang berbeda-beda pada setiap tulang janin.

Tulang janin merupakan rangka yang terdiri dari bagian kepala (cranium) hingga anggota gerak bawah (Beccari *et al.*, 2021). Beberapa skeleton yang berperan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan janin adalah costae (tulang rusuk) dan metakarpal (telapak tangan). Costae (tulang rusuk) adalah tulang

yang berfungsi sebagai pelindung organ-organ thorax (rongga dada), seperti paru-paru dan jantung (*Olude et al.*, 2013), tempat menempelnya vertebrae (tulang belakang) (*Rohmani et al.*, 2021), dan membantu proses pernafasan (*Rahman*, 2020). Akibatnya, apabila terjadi pengurangan ruas pada costae, maka dapat menyebabkan proses respirasi menjadi tidak maksimal disebabkan ruang gerak diafragma yang terbatas (*García-martínez et al.*, 2018.). Metakarpal merupakan bagian telapak tangan dan berfungsi sebagai penghubung antara pergelangan tangan dan jari sehingga membentuk kerangka tangan (*Winters & Maduakolum*, 2021). Apabila ruas tulang telapak tangan tidak lengkap maka akan terjadi gangguan kesehatan meliputi *club hands* (pemendekan tulang ibu jari atau kelingking), sindaktili (dua jari menempel) atau polidaktili (kelebihan jari atau *duplicate fingers*, yang menyebabkan ada dua atau lebih jari yang sama) (*Emerson*, 2001). Kecacatan tersebut dapat dibawa dari genetik maupun dari lingkungan, contohnya paparan radiasi atau zat kimia pada ibu hamil, seperti pada pestisida, obat, alkohol, asap rokok, dan merkuri (*Lahiji et al.*, 2019). Karena itu, mengetahui jumlah ruas pada costae fluktuantes dan metakarpal menjadi penting untuk dilakukan.

Parameter yang diuji dalam penelitian ini adalah pertumbuhan dan perkembangan skeleton fetus mencit (*Mus musculus*) meliputi jumlah fetus, jumlah ruas costae fluktuantes dan ruas metakarpal. Hasil penelitian ditunjukkan dalam tabel 4.1.1. sebagai berikut :

**Tabel 4.1.1. Rata-rata pengaruh teh hijau kombucha (*Camelia sinensis*) terhadap jumlah fetus, ruas costae fluktuantes dan metakarpal skeleton fetus mencit (*Mus musculus*)**

| Perlakuan                          | Jumlah Ruas Costae Fluktuantes<br>(buah) |    |    |    |           | Jumlah Ruas Metakarpal (buah) |    |    |    |           |
|------------------------------------|------------------------------------------|----|----|----|-----------|-------------------------------|----|----|----|-----------|
|                                    | U1                                       | U2 | U3 | U4 | $\bar{x}$ | U1                            | U2 | U3 | U4 | $\bar{x}$ |
| P1 (normal)                        | 10                                       | 16 | 14 | 12 | 13        | 15                            | 24 | 21 | 18 | 19.5      |
| P2 (alkohol<br>0,56 ml/BB)         | 12                                       | 10 | 7  | 4  | 8.25      | 12                            | 15 | 15 | 9  | 12.75     |
| P3 (teh<br>kombucha<br>0,26 ml/BB) | 8                                        | 8  | 15 | 11 | 10.5      | 12                            | 12 | 24 | 18 | 16.5      |
| P4 (teh<br>kombucha<br>0,39 ml/BB) | 12                                       | 5  | 10 | 10 | 9.25      | 21                            | 9  | 15 | 18 | 15.75     |
| P5 (teh<br>kombucha<br>0,52 ml/BB) | 10                                       | 12 | 6  | 6  | 8.5       | 18                            | 18 | 12 | 9  | 14.25     |

Pada tabel 4.1.1., perlakuan P1, P2, P3, P4, dan P5 menghasilkan jumlah fetus berturut-turut sebanyak 26, 18, 22, 21 dan 19 ekor. Jumlah fetus terbanyak berasal dari perlakuan P1 (normal) dengan jumlah 26 ekor, dan jumlah fetus paling sedikit didapatkan dari perlakuan P2 (pemberian alkohol 0,56 ml/BB) dengan jumlah 18 ekor. Jika hasil fetus P2 dibandingkan dengan P1, didapatkan jumlah fetus yang lebih sedikit. Hal ini menunjukkan pemberian alkohol 0,56 ml/BB menyebabkan penurunan jumlah fetus yang dihasilkan. Penelitian sebelumnya yakni dari Jatmiko (2018) menyatakan pemberian jus buah nangka matang dengan kadar alkohol 24% pada tikus hamil sebanyak 0,85 ml menyebabkan penurunan jumlah fetus. Artinya, semakin tinggi kadar alkohol yang diberikan akan menyebabkan semakin sedikitnya jumlah fetus.

Selanjutnya, perlakuan pemberian teh kombucha (P3, P4, P5) menghasilkan jumlah fetus sebanyak 22, 21 dan 19 ekor. Jumlah fetus terendah berasal dari perlakuan 5 (dosis 0,52 ml/BB) yaitu 19 ekor. Dengan kata lain, semakin tinggi dosis teh kombucha yang diberikan akan menurunkan jumlah fetus. Pemberian

kombucha berpengaruh menurunkan jumlah fetus yang dihasilkan, dibuktikan dengan jumlah fetus yang menurun seiring dengan kombucha yang diberikan. Hal ini disebabkan di dalam kombucha terkandung alkohol yang dapat bersifat racun untuk janin (Riswanto *et al.*, 2021). Alkohol dapat melintasi plasenta barrier/penghalang plasenta, akibatnya janin menjadi turut terpapar alkohol dari plasenta. Namun, janin tidak mampu memproses alkohol lewat hati maupun ginjal seperti pada induk (Nelly Karlinah, 2019). Hal ini berefek pada akumulasi alkohol yang sama banyaknya dengan induk dan berlangsung lebih lama pada janin. Akibatnya, terjadi masalah pada perkembangan sel janin, sehingga sangat mungkin terjadi kematian sel. Selain itu, alkohol menyebabkan tersumbatnya pembuluh darah, sehingga aliran darah yang menuju ke plasenta pun akan menjadi lebih lambat dan berakibat pada janin yang terlambat menerima zat-zat makanan yang dikonsumsi oleh induk (Fitriana, 2019). Keterlambatan tersebut akhirnya berpengaruh pada sulit berkembangnya sel-sel janin di dalam induk, bisa dalam bentuk kecacatan bentuk atau gangguan fungsi tubuh.

Di samping itu, di dalam teh kombucha terkandung salah satunya adalah asam glukoronat yang membuat janin menjadi kekurangan nutrisi dari induk (Kole *et al.*, 2009). Beberapa zat penting seperti karbohidrat, lemak, protein, vitamin dan mineral untuk pertumbuhan janin dikeluarkan paksa oleh tubuh, dikarenakan sifat detoksifikasi (mengeluarkan racun) yang membuat janin kekurangan nutrisi induk (Ho *et al.*, 2019).

Selain itu, dari tabel 4.1.1. terlihat perlakuan dengan teh kombucha (P3, P4, P5) menghasilkan jumlah fetus yang lebih banyak dibandingkan P2 (alkohol 0,56 ml/BB). Berdasarkan hasil penelitian ini terbukti bahwa pemberian kombucha lebih aman dibandingkan dengan alkohol murni.

Pada parameter kedua, jumlah ruas costae fluktuantes pada semua perlakuan (P1, P2, P3, P4 dan P5) menunjukkan rerata yang berbeda-beda dimana secara berturut-turut rerata tersebut adalah 13; 10,5; 9,25; 8,5 dan 8,25. Jumlah ruas terbanyak berasal dari P1 sebanyak 13 ruas dan jumlah ruas paling sedikit berasal dari P2 sebanyak 8.25 ruas. Menurut Setyawati & Yulihastuti, (2011) fetus normal memiliki jumlah ruas costae sebanyak 13 ruas, dalam hal ini fetus mengalami persentase penulangan (osifikasi) yang sempurna (P1) (100%). Akan tetapi, di

dalam penelitian ini membuktikan, tidak semua jumlah fetus mengalami penulangan sempurna (P2, P3, P4 dan P5), dikarenakan jumlah ruas costae fluktuantes kurang dari 4 ruas. Kurangnya ruas dapat berpengaruh pada fungsi respirasi akibat diafragma yang kurang bergerak bebas (García-martínez *et al.*, 2008).

Persentase penulangan ruas costae pada jumlah fetus dapat dilihat dalam tabel 4.1.2. sebagai berikut :

**Tabel 4.1.2 Persentase jumlah fetus yang mengalami osifikasi ruas costae fluktuantes sempurna dan tidak sempurna fetus mencit (*Mus musculus*) pada kelompok perlakuan**

| Perlakuan                    | Jumlah Fetus yang Terosifikasi Sempurna (%) | Jumlah Fetus yang Tidak Terosifikasi Sempurna (%) |
|------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| P1 (normal)                  | 100 %                                       | 0%                                                |
| P2 (alkohol 0,56 ml/BB)      | 72%                                         | 28%                                               |
| P3 (teh kombucha 0,26 ml/BB) | 99%                                         | 1%                                                |
| P4 (teh kombucha 0,39 ml/BB) | 77%                                         | 23%                                               |
| P5 (teh kombucha 0,52 ml/BB) | 79%                                         | 21%                                               |

Berdasarkan tabel 4.1.2. di atas, pada P1 dan P2 menunjukkan bahwa jumlah fetus yang terosifikasi sempurna pada P2 lebih sedikit dibandingkan dengan P1, dikarenakan pada P5 memiliki persentase jumlah fetus yang terosifikasi sempurna yaitu 72%. Ini hampir sama dengan hasil penelitian Ali *et al.*, (2011), yang sama-sama menggunakan etanol konsentrasi 0,86 % menyebabkan pengurangan ruas costae fluktuantes sebanyak 75% pada *zebrafish*. Artinya, berdasarkan hasil penelitian yang didapat dari penelitian Ali *et al.*, (2011) semakin tinggi alkohol yang diberikan menyebabkan semakin banyak pengurangan pada ruas costae fluktuantes.

Selanjutnya, perlakuan pemberian teh kombucha (P3, P4, dan P5) menghasilkan rerata jumlah costae fluktuantes sebanyak 10,5; 9,25 dan 8,5 buah (tabel 4.1.2.) dengan persentase penulangan ruas costae fluktuantes sebanyak 99%,

77% dan 79%. Rerata terendah berasal dari P5 (teh kombucha 0,52 ml/BB) yaitu 8,5 buah, namun persentase penulangan terendah adalah pada P4 (teh kombucha 0,39 ml/BB) sebanyak 77%. Dalam hal ini, kemungkinan bisa dikarenakan kemunduran partus (kelahiran), saat dilakukan pembedahan pada hari ke 18, proses penulangan belum selesai. Menurut Purnama dkk., (2018), kelahiran mencit terjadi pada hari 17-21 hari. Hal ini juga didukung oleh Setiawan (2004), proses pembentukan tulang pada mencit terjadi pada fase organogenesis yakni hari ke 5-15 kebuntingan. Kemudian pada pernyataan Pudyani (2005), pembentukan tulang bisa terhambat dikarenakan kalsium dan vitamin D yang kurang serta tingkat pembentukan setiap individu yang berbeda-beda. Menurut Vall *et al.*, (2017) di dalam teh kombucha terkandung alkohol dan kafein yang mengurangi sintesis pada kepadatan tulang sehingga mempengaruhi jumlah ruas costae yang terbentuk (Choi *et al.*, 2017).

Berdasarkan data di atas (tabel 4.1.1 dan 4.1.2), perlakuan dengan teh kombucha (P3, P4, P5) menghasilkan rerata jumlah ruas costae yang lebih banyak dibandingkan P2 (alkohol 0,56 ml/BB) dan P1. Dengan demikian, dari hasil penelitian ini terbukti bahwa pemberian kombucha lebih aman dibandingkan dengan alkohol murni terkait jumlah ruas costae fluktuantes, dibuktikan dengan rerata jumlah ruas c. fluktuantes pada P4 (teh kombucha 0,39 ml/BB) lebih banyak dari P2 (alkohol 0,56 ml/BB).

Selanjutnya pada parameter ketiga, semua kelompok perlakuan (P1, P2, P3, P4, P5) secara berurutan diperoleh rerata jumlah ruas metakarpal sebanyak 19,5; 16,5; 15,75; 14,25 dan 12,75. Perlakuan dari kelompok P1 mendapatkan rerata jumlah ruas metakarpal terbanyak yaitu 19,5 dibanding semua kelompok, sedangkan P2 adalah yang paling sedikit yakni 12,75 (tabel 4.1.1.). Hal ini dikarenakan semua kelompok P1 memiliki 3 ruas metakarpal atau dapat dikatakan penulangan ruas metakarpal terjadi secara sempurna (100%). Menurut Setyawati & Yulihastuti, (2011) fetus normal memiliki ruas metakarpal sebanyak 3 ruas. Meskipun demikian pada penelitian ini, terdapat fetus yang mengalami penulangan tidak sempurna (P1, P3, P4, P5). Hal ini dapat menimbulkan kelainan kongenital atau kelainan bentuk yang muncul sejak lahir, akibatnya terjadi kesulitan menggunakan tangan akibat anatomi tulang yang tidak sempurna (Sousa *et al.*,

2018). Persentase ruas metakarpal yang terosifikasi dijabarkan dalam tabel 4.1.3 sebagai berikut :

**Tabel 4.1.3. Persentase jumlah fetus mencit (*Mus musculus*) yang mengalami osifikasi sempurna dan tidak sempurna pada kelompok perlakuan**

| Perlakuan                    | Jumlah Fetus yang Terosifikasi Sempurna (%) | Jumlah Fetus yang Tidak Terosifikasi Sempurna (%) |
|------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| P1 (normal)                  | 100 %                                       | 0%                                                |
| P2 (alkohol 0,56 ml/BB)      | 67%                                         | 33%                                               |
| P3 (teh kombucha 0,26 ml/BB) | 100%                                        | 0%                                                |
| P4 (teh kombucha 0,39 ml/BB) | 100%                                        | 0%                                                |
| P5 (teh kombucha 0,52 ml/BB) | 100%                                        | 0%                                                |

Berdasarkan pada tabel 4.1.3., kelompok perlakuan 2 (P2) (alkohol 0,56 ml/BB) menghasilkan persentase jumlah fetus yang terosifikasi sempurna pada metakarpal sebanyak 67% dan tidak terosifikasi sempurna pada metakarpal sebanyak 33%, dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 (P1) (normal). Hal ini membuktikan bahwa pemberian alkohol sebanyak 0,56 ml mengurangi persentase jumlah fetus yang terosifikasi sempurna pada metakarpal fetus mencit sebanyak 33%, sejalan dengan penelitian Setyawati & Yulihastuti, (2011) bahwa pemberian etanol dengan dosis 80% (0,8 ml) dapat menyebabkan penurunan persentase jumlah fetus yang terosifikasi sempurna pada metakarpal fetus mencit sebanyak 56%. Dengan demikian, pemberian dosis alkohol yang semakin tinggi akan menurunkan persentase jumlah fetus yang terosifikasi sempurna pada metakarpal fetus mencit. Menurut Sousa *et al.*, (2018), alkohol dapat mempengaruhi penyerapan kalsium serta vitamin D, sehingga hal ini menyebabkan kematian osteoblas, sel-sel pembentuk tulang. Jika sel-sel pembentuk tulang mengalami kematian akan berpengaruh pada kepadatan tulang, tulang yang terbentuk adalah tulang yang patah dan rapuh.

Sehubungan dengan itu, pada perlakuan dengan teh kombucha (P3, P4, P5) menghasilkan rerata ruas metakarpal sebanyak 16,5; 15,75 dan 14,25 buah (tabel 4.1.1.) serta persentase penulangan sebanyak 100% (tabel 4.1.3). Untuk itu, dapat diketahui bahwa semakin tinggi dosis teh kombucha yang diberikan, tidak mempengaruhi jumlah ruas metakarpal pada fetus. Artinya, teh kombucha dalam hal ini tidak berefek terhadap jumlah ruas penulangan pada metakarpal fetus mencit. Jika dibandingkan dengan perlakuan 2 (P2) (alkohol 0,56 ml/BB), rerata jumlah ruas metakarpal yang dihasilkan masih lebih banyak. Sebagai kesimpulan, alkohol murni bersifat lebih toksik dibandingkan teh kombucha, dikarenakan akumulasi alkohol murni lebih tinggi (0,56 ml/BB) dibandingkan kandungan alkohol di dalam teh kombucha (0,52 ml/BB).

Kombucha bersifat lebih aman pada ketiga parameter (jumlah fetus, ruas costae dan ruas metakarpal) dibandingkan dengan pemberian alkohol murni pada fetus mencit dibuktikan dengan hasil yakni jumlah fetus, ruas costae dan metakarpal yang lebih banyak dari kelompok perlakuan kombucha. Namun, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh kadar asam glukoronat dan alkohol di dalam kombucha dalam menyebabkan kematian jumlah fetus mencit dengan memberikan waktu fermentasi yang berbeda serta pengamatan kematian jumlah sel osteoblast pada bagian ruas costae dan metakarpal yang tidak menulang dibandingkan dengan jumlah sel osteoblast normal yang mengalami kematian tanpa diberikan perlakuan apapun.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan teh kombucha merupakan minuman yang lebih aman dibandingkan minuman beralkohol, namun belum tentu baik dikonsumsi oleh ibu hamil. Menurut Ali (2016), baik bisa diartikan sebagai sesuatu yang layak bagi jasad atau tubuh, baik dari segi gizi dan kesehatan serta tidak membahayakan badan dan akal. Hal ini terdapat dengan firman Allah ﷻ dalam Al-Qur'an Surah Al-Baqarah ayat 172 sebagai berikut :

﴿يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا كُلُوا مِن طَيِّبَاتِ مَا رَزَقْنَاكُمْ وَاشْكُرُوا لِلَّهِ إِن كُنتُمْ إِيَّاهُ تَعْبُدُونَ (١٧٢)﴾

Artinya : *Hai orang-orang yang beriman, makanlah di antara rezeki yang baik-baik yang Kami berikan kepadamu dan bersyukurlah kepada Allah, jika benar-benar kepada-Nya kamu menyembah (QS. Al-Baqarah [2]:172)*

Berdasarkan ayat di atas, kata kunci طَيِّبَات (baik) berarti sebuah zat yang cocok dan memperkuat tubuh dari segi gizi, kesehatan serta tidak berbahaya untuk badan dan pikiran (Tafsir Al-Azhar, 1976). Kemudian menurut Tafsir Lengkap Kemenag (2017), menyebutkan seorang mukmin dianjurkan makan makanan yang baik yang diberikan Allah ﷻ, dan rezeki yang diberikan-Nya itu haruslah disyukuri. Hikmah memakan makanan yang baik, maka jelas nilai gizinya dan sesuai dengan kebutuhan tubuh manusia.

#### **4.2. Pengaruh Teh Hijau Kombucha (*Camelia sinensis*) terhadap Malformasi *Costae Fluktuantes* dan Metakarpal Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus*) secara *In Vivo***

Pada masa organogenesis saat kebuntingan, membutuhkan banyak nutrisi yang baik dan seimbang (Sary, 2009). Ketidakseimbangan nutrisi dapat berdampak negatif pada induk dan fetus yang dikandungnya, misalnya adalah kalsium. Kalsium merupakan bahan utama dalam proses penulangan (osifikasi) (Christiani, 2016). Proses osifikasi fetus selama kebuntingan erat hubungannya dengan kandungan kalsium dan fosfor di dalam tubuh induk. Kalsium bagi pertumbuhan fetus diperoleh dari darah induk melalui absorpsi  $\text{Ca}^{2+}$  dari saluran pencernaan, reabsorpsi di dalam tubulus kontortus proksimal ginjal dan reabsorpsi melalui sel-sel osteoklas (Setiawan, 2012).

Menurut Rahayu *et al.* (2005), tubuh manusia umumnya menyimpan 22,5 g kalsium dan 0,5 dari jumlah tersebut disimpan pada masa kehamilan yang berguna pada proses osifikasi tulang fetus. Apabila jumlah kalsium dan fosfor di dalam tubuh induk kurang, maka dapat berpengaruh pada cacat bawaan pada tulang, salah satunya adalah malformasi. Malformasi merupakan pertumbuhan maupun pembentukan jaringan yang berubah pasca kelahiran karena faktor genetis, teratogen, nutrisi dan lingkungan (Dittmer & Thompson, 2015; Kalla *et al.*, 2021).

Malformasi secara tersirat disebutkan Allah ﷻ berfirman dalam Al-Qur'an Surah Ar-Rum ayat 54 sebagai berikut :

﴿اللَّهُ الَّذِي خَلَقَكُمْ مِنْ ضَعْفٍ ثُمَّ جَعَلَ مِنْ بَعْدِ ضَعْفٍ قُوَّةً ثُمَّ جَعَلَ مِنْ بَعْدِ قُوَّةٍ ضَعْفًا وَشَيْبَةً يَخْلُقُ مَا يَشَاءُ وَهُوَ الْعَلِيمُ الْقَدِيرُ﴾ (٥٤)

*Artinya : Allah, Dialah yang menciptakan kamu dari keadaan lemah, kemudian Dia menjadikan (kamu) sesudah keadaan lemah itu menjadi kuat, kemudian Dia menjadikan (kamu) sesudah kuat itu lemah (kembali) dan beruban. Dia menciptakan apa yang dikehendaki-Nya dan Dialah Yang Maha Mengetahui lagi Maha Kuasa (QS. Ar-Rum [30]:54).*

Berdasarkan ayat di atas, kata kunci *خَلَقَكُمْ مِنْ ضَعْفٍ* (menciptakan kalian dari keadaan lemah) menurut Tafsir Al-Misbah (2001) menyiratkan tentang pertumbuhan fisik manusia yakni pada masa-masa bayi kemudian menjadi kuat saat dewasa untuk dapat melakukan banyak hal. Allah ﷻ dapat melakukan hal sebaliknya pada manusia, maksudnya dalam keadaan lemah dalam masa tua, atau menciptakan hal dengan sempurna dan tidak sempurna. Sedangkan menurut Tafsir At-Tarbawi (2002), walaupun manusia makhluk yang diciptakan sebagai makhluk yang paling sempurna, tetapi manusia adalah makhluk yang paling lemah diantara makhluk-makhluk lainnya, atas pertolongan Allah ﷻ sesuatu yang tidak ada arti dan tidak punya daya apa-apa, yaitu nutfah (zygot) yang merupakan telur yang terbuahi sperma. Nutfah itu kemudian berkembang menjadi janin, dan lahir memiliki kekuatan, dan Allah ﷻ dapat berkehendak menciptakan manusia mengalami perubahan fisik, yakni fisik yang tidak sempurna, penyakit atau kematian. Hal ini menjadikan tidak ada yang patut disombongkan pada diri manusia, hikmah ini senantiasa menjadikan manusia untuk selalu bersyukur kepada Allah ﷻ

Keadaan lemah manusia berkaitan dengan ada bentuk tubuh yang diciptakan kadang tidak sempurna sebagai ujian hidup. Sebagai contoh adalah malformasi tulang pada costae dan metakarpal. Malformasi costae diantaranya agenesis (tidak adanya satu atau beberapa kosta satu sisi dinding dada), hypoplasia (proses pengembangan yang tidak sempurna pada suatu jaringan tubuh), bifid (rusuk bercabang dua), fused (dua atau lebih tulang rusuk bergabung), serta dysmorphic (rusaknya tulang rawan berakibat pada depresi unilateral atau bilateral pada dinding

toraks) (Amal, 2015). Kemudian, malformasi pada metacarpal contohnya adalah pembesaran pada ruas metakarpal (As *et al.*, 2010). Malformasi tersebut merupakan bentuk dari malformasi minor dan tidak menyebabkan masalah kesehatan serius. Namun, hal ini berpengaruh pada bentuk fisik bagi individu yang terkena, dan gangguan fungsi tubuh dalam jangka panjang, misalnya dyskinesia (reflex tubuh yang tidak disadari) (As *et al.*, 2010; Desesso & Scialli, 2018).

Pada penelitian ini ditemukan jenis-jenis malformasi pada costae yang disajikan dalam tabel 4.2.1. sebagai berikut :

**Tabel 4.2.1. Jenis malformasi pada costae fluktuantes dan metakarpal fetus mencit (*Mus musculus*) terhadap semua kelompok perlakuan**

| Perlakuan                          | Malformasi Costae Fluktuantes                 |                                                             | Malformasi Metakarpal                            |                                                                   |
|------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
|                                    | Presentasi<br>Jumlah fetus<br>yang Malformasi | Jenis<br>Malformasi                                         | Presentasi<br>Jumlah fetus<br>yang<br>Malformasi | Jenis Malformasi                                                  |
| P1 (normal)                        | 0%                                            | -                                                           | 0%                                               | -                                                                 |
| P2 (alkohol<br>0,56 ml/BB)         | 50%                                           | Costae<br>bergelombang,<br>fusi, costae<br>tumbuh<br>pendek | 50%                                              | Semua ruas tidak<br>menulang, C5 tidak<br>menulang,               |
| P3 (teh<br>kombucha<br>0,26 ml/BB) | 4,54%                                         | Costae<br>bergelombang                                      | 22%                                              | Semua ruas tidak<br>menulang ; C1, C4<br>dan C5 tidak<br>menulang |
| P4 (teh<br>kombucha<br>0,39 ml/BB) | 33%                                           | Costae<br>bergelombang,<br>fusi, costae<br>tumbuh<br>pendek | 0%                                               | -                                                                 |
| P5 (teh<br>kombucha<br>0,52 ml/BB) | 42%                                           | Costae<br>bergelombang,<br>fusi, costae<br>tumbuh<br>pendek | 0%                                               | -                                                                 |

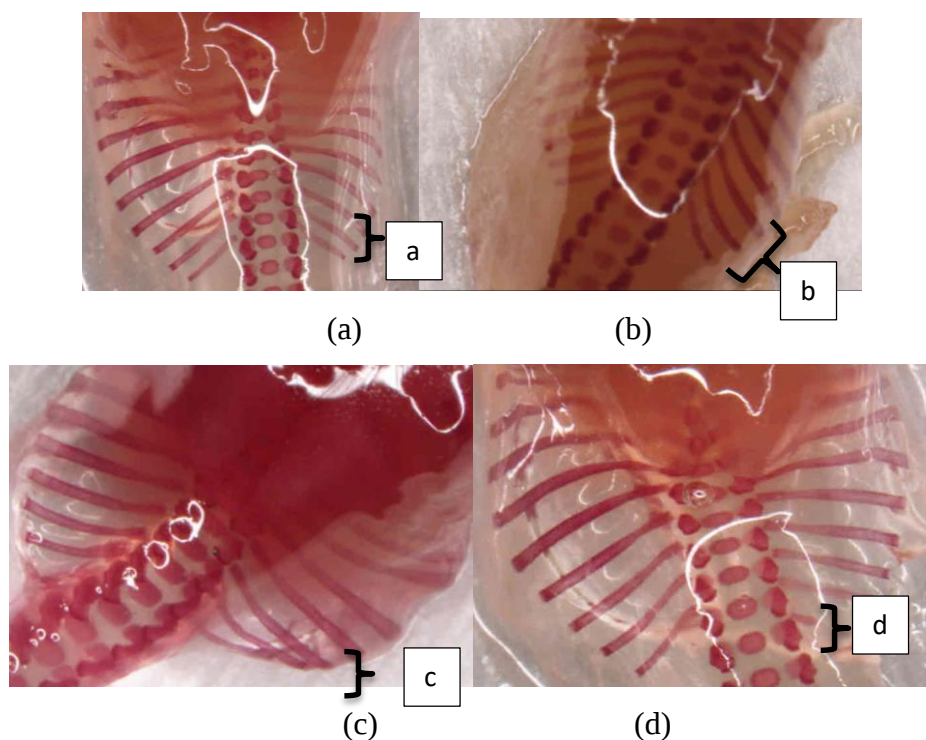
Berdasarkan tabel 4.2.1. pada P1, P2, P3, P4 dan P5 menghasilkan persentase jumlah fetus yang mengalami malformasi berturut-turut yaitu 0%, 50%, 4,54%, 33% dan 42%. Persentase malformasi paling sedikit didapat dari P1 (normal) yaitu 0%, dan persentase paling banyak didapat dari P2 (alkohol 0,56 ml/BB) yaitu 50%. Jika dilihat pada P2 memberikan persentase jumlah fetus yang lebih banyak mengalami malformasi costae fluktuantes daripada P1. Hal ini berarti, pemberian alkohol 0,56 ml/BB menyebabkan jumlah fetus yang mengalami malformasi semakin banyak. Penelitian ini hampir sama dengan Setyawati & Yulihastuti (2011) menggunakan ekstrak nanas muda dengan kadar alkohol 80% meningkatkan resiko malformasi costae fetus sebanyak 80%. Artinya, semakin tinggi kadar alkohol yang diberikan menyebabkan jumlah fetus yang mengalami malformasi semakin banyak.

Setelah itu, pada P3, P4 dan P5 menghasilkan persentase jumlah fetus yang mengalami malformasi costae fluktuantes sebanyak 4,54%, 33% dan 42%. Jumlah fetus yang mengalami malformasi paling banyak berasal dari P5, yakni pemberian teh kombucha dengan dosis 0,52 ml/BB) yakni 42%. Dalam hal ini dapat dilihat bahwa semakin tinggi dosis teh kombucha yang diberikan akan memperbesar persentase jumlah fetus yang bermalformasi. Pemberian teh kombucha berpengaruh menaikkan malformasi fetus, dibuktikan dengan persentase jumlah fetus yang mengalami malformasi semakin tinggi. Hal ini dikarenakan di dalam kombucha terkandung alkohol yang dapat menyebabkan malformasi costae (Ruiz *et al.*, 2022.).

Namun, apabila P2 dibandingkan dengan kelompok perlakuan kombucha (P3, P4 dan P5), maka P2 menghasilkan jumlah fetus yang mengalami malformasi terbanyak. Ini artinya, pemberian alkohol murni sebanyak 0,56 ml/BB meningkatkan resiko malformasi costae janin sebanyak 50% dibandingkan kombucha yang meningkatkan resiko malformasi sebesar 42%. Hal ini hampir sama dengan penelitian Pandey (2016) menggunakan etanol dengan konsentrasi 0,25 ml/BB meningkatkan resiko malformasi pada costae sebanyak 75% pada mencit.

Contoh malformasi pada costae di antaranya adalah agenesis (tidak adanya satu atau beberapa kosta satu sisi dinding dada), hypoplasia (proses pengembangan yang tidak sempurna pada suatu jaringan tubuh), bifid (rusuk bercabang dua), fused

(dua atau lebih tulang rusuk bergabung), serta dysmorphic (rusaknya tulang rawan berakibat pada depresi unilateral atau bilateral pada dinding toraks) (Amal, 2015). Namun pada penelitian yang telah dilakukan ditemukan 3 jenis malformasi yang yaitu costae bergelombang (wavy ribs), fusi dan costae yang tumbuh pendek (short ribs) (gambar 4.1). Ini didukung oleh pernyataan Carney dan Kimmel (2007), costae yang memendek dan bengkok bersama tulang rusuk bergelombang sering dilaporkan menjadi kecacatan kongenital janin.



**Gambar 4.2. 1. Perbandingan bentuk costae fluktuantes normal dengan costae fluktuantes malformasi pada fetus mencit (*Mus musculus*) (a.) normal (b.) costae bergelombang (c.) fusi (d.) short ribs**

Malformasi pertama adalah costae bergelombang (*wavy ribs*) yang ditemukan pada P2, P3, P4 dan P5 (gambar b.). Tulang rusuk bergelombang biasanya terlihat adanya zat toksik pada masa kehamilan. Perubahan ini biasanya ditemukan pada dosis tinggi. Menurut pernyataan Desesso & Scialli (2018), yaitu iga bergelombang ditemukan pada hewan pengerat termasuk ke dalam malformasi

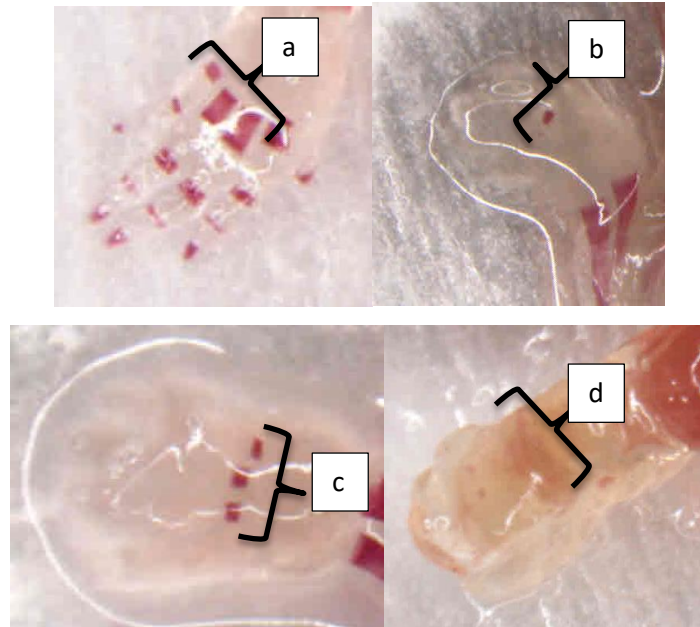
minor. Malformasi ini disebabkan oleh zat alkohol pada kombucha maupun alkohol murni (Periodicals *et al.*, 2014).

Selanjutnya malformasi kedua adalah pada gambar c, ditemukan fusi pada costae fluktuantes yakni pada P2, P4 dan P5 (gambar c.). Fusi (*congenital fused ribs*) atau rib synostosis adalah penggabungan dari dua atau lebih tulang rusuk (Almasarei, 2022). Menurut Loh (2009), fusi pada tulang rusuk dapat terjadi karena kesalahan dalam segmentasi jaringan tulang selama perkembangan. Selain itu, menurut Loh (2009), fusi tulang rusuk menyebabkan skoliosis dan rongga dada menjadi terbatas dalam system pernapasan.

Kemudian, malformasi ketiga adalah tulang rusuk yang memendek dan ditemukan pada P2, P4 dan P5 (gambar d). Malformasi ini dapat tergolong dalam sindrom (SRPS/*short rib-polydactyly syndrome*), dengan ciri ciri hipoplastik thorax, iga pendek, polidaktili, dan kelainan visceral (Türkmen *et al.*, 2003).

Kemudian pada parameter metakarpal, pada tabel 4.2.1. juga terlihat semua kelompok perlakuan menghasilkan persentase jumlah fetus yang mengalami malformasi metakarpal sebanyak 0%, 50%, 22%, 0%, 0% dan 0%. Maka dalam hal ini yang hanya mengalami malformasi costae adalah P2 dan P3, dengan persentase terbanyak adalah 50% dan yang paling sedikit adalah 22%. Hal ini menunjukkan alkohol lebih berperan dalam menaikkan presentase malformasi fetus dibandingkan dengan teh kombucha. Hal ini didukung oleh Setyawati & Yulihastuti, (2011) pemberian nanas muda dengan kadar alkohol 80% meningkatkan malformasi metakarpal sebanyak 80%. Artinya, semakin tinggi kadar alkohol akan menyebabkan presentase jumlah fetus yang mengalami malformasi semakin banyak

Sedangkan pemberian kombucha tidak mempengaruhi jumlah fetus yang mengalami malformasi, hal ini bisa disebabkan oleh ketahanan induk yang berbeda-beda terhadap teratogen yang masuk.



**Gambar 4.2. 2. Perbandingan bentuk metakarpal normal dan malformasi (a.) normal (b.) ruas pertama, kedua dan keempat tidak menulang (c.) ruas keempat tidak menulang (d.) semua ruas tidak menulang.**

Pada tangan, pembentukan metakarpal (tulang telapak tangan) terjadi sebelum pembentukan falanges (tulang jari). Gambar 4.2.2. menunjukkan 3 malformasi yang berbeda-beda dibandingkan dengan metakarpal normal (gambar a), yakni ada yang menulang (gambar b dan c) dan tidak (gambar d). Hal ini dipengaruhi oleh kadar alkohol pada P2 (alkohol murni 0,56 ml/BB) dan P3 (teh kombucha 0,26 ml/BB) sehingga membuat metakarpal menjadi tidak menulang. Hal ini didukung oleh Gottschalk *et al.*, (2016), alkohol dapat menyebabkan sinostosis pada metakarpal yakni terbentuknya tulang metakarpal yang berbeda-beda.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. Kesimpulan**

Kesimpulan dalam penelitian ini adalah pemberian kombucha teh hijau (*Camelia sinensis*) mempengaruhi jumlah ruas costae fluktuantes dan malformasinya namun tidak berpengaruh terhadap jumlah ruas metakarpal dan malformasi fetus mencit (*Mus musculus*).

#### **5.2. Saran**

Saran dalam penelitian ini adalah dalam penelitian selanjutnya hendaknya dilakukan penambahan ulangan pada induk mencit (*Mus musculus*), pengukuran panjang badan fetus untuk mengetahui beberapa kelainan pertumbuhan costae fluktuantes dan metakarpal yang terjadi serta dilakukan metode pewarnaan yang lain untuk mengetahui kecacatan costae fluktuantes dan metakarpal lebih lanjut terkait perbedaan hasil warna yang terjadi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adil, E. I. M, L. Sjahfirdi, N. Anita & D. Kusmana. 2005. *Pengantar Praktikum Struktur Hewan*. Jakarta : Rineka Cipta
- Aguiar, A. S., Speck, A. E., Amaral, I. M., Canas, P. M., & Cunha, R. A. 2018. The exercise sex gap and the impact of the estrous cycle on exercise performance in mice. *Scientific Reports*, Vol. 8, No. 1.
- Ajayi, A.F., Akhigbe, R.E. 2020. Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update. *Fertil Res and Pract*, Vol. 6, No. 5.
- Akbar, A. 2021. Peran acrosin pada fertilisasi pria: literature review. *Jurnal Pandu Husada*, Vol. 2, No. 2.
- Al-‘Alāmah al-Rāghib al-Ashfāhānī. 1997. *Mufradāt Alfādz Al-Qur’ān*, Dimasq: Dār alQalam.
- Al-Asyqār, Muhammad Sulaimān ‘Abdullāh. 2013. *Zubdatut Tafsīr min Fathil Qadīr*. Oman: Dār an-Nafāis.
- Alatas, H. dan Hasan, R. 2005. *Buku Kuliah Kesehatan Anak*. Jakarta : FK UI.
- Al-Fartosi, K. G., AL-Haider, M. N., & AL-Maiyah, R. S. 2012. Effect of alkaloid ricinine on fertility and some blood parameters of female mice (*Mus musculus*). *Journal of College of Education for Pure Science*, Vol. 2.
- Al-Hajwi, Muhammad bin al-Hasan. 1396 H. *Al-Fikr al-Sāmī fī Tārīkh al-Fikih al-Islāmī, Jilid I*. al-Madīnah al-Munawwarah: al-Maktabah al-‘Ilmiyah
- Ali, S., Champagne, D. L., Alia, A., & Richardson, M. K. 2011. Large-Scale Analysis of Acute Ethanol Exposure in Zebrafish Development: A Critical Time Window and Resilience. 6(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020037>
- Al-Imam Abul Fida Isma‘il Ibnu Katsir ad-Dimasyqi. 2002. *Terjemah Tafsir Ibnu Katsir Juz 1*, Bandung: Sinar Baru al-Gensindo.
- Al-Mahalli, Jalaluddin dan Jalaluddin As-Suyuti, 2007. *Tafsir Al-Jalalain*. Terj. Bahrūn. Abubakar. Bandung.
- Almahdy. 2004. Uji aktivitas teratogenitas ekstrak etanol daun inggu (*Ruta graveolens* Linn.) pada mencit putih. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. Hal. 82-87.
- Al-Qardawi, Muhammad Yusuf. 2008. *al-Ghawl fī al-Islam Cet. I*. Doha: AFP Publisher.

- Al-Qarni Aidh. 2007. *Tafsir Muyassar*. Jakarta: Qisthi Press.
- Amarasinghe, H., Weerakkody, N. S., & Waisundara, V. 2016. Evaluation of antioxidant activity and chemical properties of kombucha tea fungus during extended periods of fermentation. *02 Annual Research Session*.
- Anfiandi, V. 2013. Uji teratogenik infusa daun pegagan (*Centella asiatica* [L.] Urban) pada mencit betina (*Mus musculus*). *Calyptra*, Vol. 2, No. 1.
- Antolak, H., Piechota, D., & Kucharska, A. (2021). Kombucha tea—A double power of bioactive compounds from tea and symbiotic culture of bacteria and yeasts (SCOBY). *Antioxidants*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/antiox10101541>
- Applegate, C., Mueller, M., & Zuniga, K. E. 2017. Influence of dietary acid load on exercise performance. *International Journal Of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, Vol. 27, No. 3.
- Aprilia, W. 2020. Perkembangan pada masa pranatal dan kelahiran. *Yaa Bunayya : Jurnal Pendidikan Anak Usia Dini*. Vol. 4, No I.
- As, P., Wc, S., Cr, V., Bj, H., Wd, J., Dw, L., Di, V., Incidence, S. M. R. M., Je, L., Bw, R., Jw, J., Authors, T., & Journal, A. N. Z. (2010). References 1. 663–664. <https://doi.org/10.1111/j.1445-2197.2010.05413.x>
- Astuti, N. K. F., Setyawati, I., & Narayani, I. 2019. Morfologi dan perkembangan skeleton fetus tikus (*Rattus norvegicus* L.) yang diberi pakan mengandung kulit nanas (*Ananas comosus* Merr.) selama kebuntingan. *Metamorfosa: Journal Of Biological Sciences*.
- Auffray, Jean-Christophe & Janice Britton-Davidian. 2012. Teh house mouse and its relatives: systematics and taxonomy. *Evolution of teh House Mouse*. Cambridge: Cambridge University Press
- Austin, C.R. and Short, R.V. 1984. *Hormonal Kontrol of Reproduction*. Cambridge University Press : Cambridge.
- Ayu, Kinanthi Puji, Lestari dan Lailatus Sa'diyah. 2020. Karakteristik kimia dan fisik teh hijau kombucha pada waktu pemanasan yang berbeda. *Journal of Pharmacy and Science*. Vol. 5, No. 1.
- Backer, C. A., & van Den Brink, R. C. B., 1965, *Flora of Java (Spermatophytes only)*. NV. P., Noordhoof, Groningen : Teh Netherlands.
- Beccari, V., Pinheiro, F. L., Nunes, I., Anelli, L. E., Mateus, O., & Costa, F. R. 2021. Osteology of an exceptionally well-preserved tapejarid skeleton from Brazil: Revealing the anatomy of a curious pterodactyloid clade. In *PLoS ONE* (Vol. 16, Issue 8 August). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254789>

- Bedrood, Z., Rameshrad, M., & Hosseinzadeh, H. 2018. Toxicological effects of *Camellia sinensis* (green tea): a review. *Phytotehrapy Research*, Vol. 32 No. 7.
- Bhattacharya, S., Gachhui, R., and Sil, P. C. 2011. Hepatoprotective properties of kombucha tea against TBHP-induced oxidative stress via suppression of mitochondria dependent apoptosis. *Pathophysiology*, Vol. 18, No. 3.
- Bin Ali, Muhammad asy-Syaukani Rahimahullah. 2007. *Fathul Qadir*. Jakarta: Pustaka Azam.
- Blaszczyk-Bebenek, E., Piorecka, B., Kopytko, M., Chadzinska, Z., Jagielski, P., and Schlegel Zawadzka, M. 2018. Evaluation of caffeine consumption among pregnant women from Soutehr Poland. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, Vol. 15, No. 11.
- Boyle, P., Autier, P., Bartelink, H., Baselga, J., Boffetta, P., Burn, J., and Zur Hausen, H. 2003. European code against cancer and scientific justification: third version. *Annals of Oncology*, Vol. 14, No. 7.
- Breed, W. G., Leigh, C. M., & Speight, N. 2013. Coevolution of teh male and female reproductive tracts in an old endemic murine rodent of australia. *Journal of Zoology*, Vol. 289 No. 2.
- Busman, H., Nurcahyani, N., Saputra, Y. D., Farisi, S., & Salsabila, Q. 2021. Mortalitas dan resorpsi fetus mencit (*Mus musculus* L.) setelah pemberian ekstrak etanol tanaman suruhan (*Peperomia pellucida* (L.,) Kunth.). *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*, 194-202.
- Cabrera, C., R. G. Nez, and M. C. Loã Pez. 2003. Determination of tea components with antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 51.
- Campbell, N. A., J. B. Reece, L. G. Mitchell. 2003. *Biologi Edisi Kelima Jilid 3*. Jakarta: Erlangga.
- Chen, C., and Liu, B. Y. 2000. Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, Vol, 89.
- Choi, M. J., Chang, K. J., Lee, J. W., & Jung, Y. J. 2017. Beneficial function of taurine on bone metabolism in alcohol-fed ovx rat model. *In Taurine* Vol. 10.
- Christiani, R. E., Irina S., & Dwi A. Y. 2016. Kebuntingan, s. morfologi dan perkembangan skeleton fetus tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi ransum mengandung daun kaliandra (*Calliandra calothyrsus*). *Jurnal Biologi*, Vol. 20, No. 2.
- Conney, A. H., Lu, Y. P., Lou, Y. R., & Huang, M. T. 2002. Inhibitory effects of tea and caffeine on UV-induced carcinogenesis: relationship to enhanced

- apoptosis and decreased tissue fat. *European Journal of Cancer Prevention: Teh Official Journal of Teh European Cancer Prevention Organisation (ECP)*, Vol. 11.
- Crum, H and Alex Lp. 2016. *Teh Big Book Of Kombucha: Brewing, Flavoring and Enjoying Teh Health Benefits Of Fermented Tea*. USA : Storey Publishing.
- Cunha, G. R., Sinclair, A., Ricke, W. A., Robboy, S. J., Cao, M., & Baskin, L. S. 2019. Reproductive tract biology: of mice and men. *Differentiation*, Vol. 110.
- Czaja, W.; Krystynowicz, A.; Bielecki, S. & Brown, R.J. 2006. Microbial cellulose-teh natural power to heal wounds, *Biomaterials*. Vol. 27, No.2.
- Damayana, Sutri, Sri Wigati and Elisma. 2019. Test of teratogenic effects of transflutrin and d-alleetrin compounds in mosquito drugs against mice fetus (*Mus musculus* L.). *Indonesian Journal of Pharma Science*. Vol. 1 No. 1.
- Delgado, R, A. 2015. Té de Kombucha y sus beneficios para el sistema digestivo. *Dissertation*. Universidad Particular Equinoccial.
- Derek, Kalangi SJR, Wangko S. 2007. *Kerja Osteoklas pada Perombakan Tulang*. BIK Biomed.
- Desesso, J. M., & Scialli, A. R. 2018. Bone development in laboratory mammals used in developmental toxicity studies. <https://doi.org/10.1002/bdr2.1350>
- Dillasamola, D. 2020. Infertilitas : *Kumpulan Jurnal Penelitian Infertilitas*. Padang : LPPM Universitas Andalas.
- Dillasamola, D., Sari, N. P., Putri, B. O., Noverial, N., & Diliarosta, S. 2018. Evaluation of propolis and milk administration on caffein-induced *Mus musculus* fetus skeletal. *Pharmaceutical Sciences & Research*, Vol. 5, No. 1.
- Dislocation, T. M. 2001. Visual Diagnosis in total metacarpal dislocation. 20(3), 295–296.
- Dittmer, K. E., & Thompson, K. G. 2015. Approach to Investigating Congenital Skeletal Abnormalities in Livestock. 52(5), 851–861. <https://doi.org/10.1177/0300985815579999>
- Dixon, J., Jones, N.C., Sandell, L.L., Jayasinghe, S.M., Crane, J., Rey, J.P., Dixon, M.J., Trainor, P.A., 2006. Tcof1/Treacle is required for neural crest cell formation and proliferation deficiencies that cause craniofacial abnormalities. *Proc Natl Acad Sci USA*. Vol. 103, No. 36.
- Eboh, A., Moyaki, G. M., & Okino, P. 2019. Utilisation of herbal medicine among pregnant women attending formal health care facilities in Okene Local

Government Area of Kogi State. *Bangladesh e-Journal of Sociology*, Vol. 16, No. 1.

Ekambaram G, SKS K, Joseph LD. 2017. Comparative Study on teh Estimation of Estrous Cycle in Mice by Visual and Vaginal Lavage Method. *J Clin Diagnostic Res*. Vol. 11, No. 1.

Ekarambam, Gnanagurudasan, Senthil Kumar Sampath Kumar, and Leena Dennis Joseph. 2017. Comparative study on teh estimation of estrous cycle in mice by visual and vaginal lavage method. *J Clin Diagn Res*, Vol. 11 No. 1.

Eluwa, M. A., Agarrey, L. E., Ekanem, T. B., Akpantah, A. O., Ekeoma, A. O., & Ekong, M. B. 2010. Comparative study of teratogenic effects of brewed beer and palm wine on fetal femur bone of albino Wistar rats. *International Journal of Biomedical and Health Sciences*, Vol. 6, No. 4.

Erwin, Etriwati, dan Rusli. 2012. Mencit (*Mus musculus*) galur balb-c yang diinduksikan streptozotosin berulang sebagai hewan model diabetes melitus. *Jurnal Kedokteran Hewan*, Vol. 6 No. 1.

Fadilah, B. C., Khozin, F. A., & Purnama, M. T. E. 2017. Malnutrisi dapat menurunkan frekuensi libido mencit jantan (*Mus Musculus*). *Jurnal Medik Veteriner*, Vol. 1, No. 1.

Ficker CE, Arnason JT, Vindas PS, Alvares LP, Akpagana K, Gbeassor M, De Souza C, Smith ML. 2003. Inhibition of human pathogenic fungi by ethnobotanically selected plant extract. *National Center for Biotechnology Information*.

Firdaus, S., C, A. I., Isnaini, L., & Aminah, S. (2017). “ Review ” Teh Kombucha Sebagai Minuman Fungsional dengan Berbagai Bahan Dasar Teh. Teh Kombucha Sebagai Minuman Fungsional Dengan Berbagai Bahan Dasar Teh, 2013, 715–730.

Fitriana, K. R. 2019. Efek Konsumsi Alkohol dan Merokok Pada Wanita Hamil. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 10(2), 233–237. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v10i2.159>

Frandsen, R.D. 1992. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Yogyakarta: UGM. Press

García-martínez, D., Torres-tamayo, N., Torres-sánchez, I., García-río, F., Rosas, A., & Bastir, M. (n.d.). capacity in Neanderthals and Lower Pleistocene. *Communications Biology*, 2018, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s42003-018-0125-4>

Gottschalk, M. B., Danilevich, M., & Gottschalk, H. P. 2016. Carpal Coalition and Metacarpal Synostoses : A Review.

- Hafez, E.S.E. (Ed).1993. *Reproduction In Farm Animals*. 6 Ed. Philadelphia : Lea and Febiger.
- Handayani, K. S. dan Endang E. 2018. *Anatomi Hewan*. Jakarta : BPP SDM Pertanian.
- Hannebaum, S. L., Brown, C. R., & Booth, W. 2017. Ecological and phenotypic effects on survival and habitat transitions of white-footed mice. *Journal of Mammalogy*, Vol. 98 No. 5.
- Hardijanto, S. Susilowati, T. Sardjito, T. Hernawati dan T. W. Suprayogi. 2010. *Inseminasi Buatan*. Surabaya : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Hardjopranjoto. 1995. *Ilmu Kemajiran Ternak*. Airlangga University Press.
- Harmanto, Ning, Subroto, M. Ahkam. 2007. *Pilih Jamu dan Herbal Tanpa Efek Samping*. Jakarta : PT Elex Media Komputindo.
- Hasanah U, Rusny, Masri M. 2015. Analisis pertumbuhan mencit (*Mus musculus*) ICR dari hasil perkawinan inbreeding dengan pemberian pakan ad1 dan ad2. *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan*.
- Hasanah, A. 2015. Efek jus bawang bombay (*Allium cepa* Linn.) terhadap motilitas spermatozoa mencit yang diinduksi streptozotocin (STZ). *Jurnal Ilmu Kesehatan dan Kedokteran*, Vol. 11, No.2.
- Herfindale, E.T., Gourley, D.R. 2000. *Textbook of Tehrapeutics Drugs and Disease Management, Sevent Edition*, Philadelphie : Lippincott Williams and Wilkins.
- Herwin, H., Kosman, R., & Siami, I. 2013. Produksi sediaan kombucha dari daun permot (*Passiflora Foetida* L) secara fermentasi. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, Vol. 5, No. 1.
- Hidayati, A. (2017). Merangsang Pertumbuhan Dan Perkembangan Anak Dengan Pembelajaran Tematik Terpadu. Sawwa: Jurnal Studi Gender, 12(1), 151. <https://doi.org/10.21580/sa.v12i1.1473>
- Hilal, Y. 2017. Morphology, manufacturing, types, composition and medicinal properties of tea (*Camellia sinensis*). *International Journal of Basic & Applied Sciences*, Vol. 1, No. 2.
- Ho, A., Sinick, J., Esko, T., Fischer, K., Menni, C., Zierer, J., Fortney, K., & Morgen, E. K. 2019. Circulating glucuronic acid predicts healthspan and longevity in humans and mice. 11(18), 7694–7706.
- Hong H, Yen HY, Brockmeyer A, Liu Y, Chodankar R, Pike MC, Stanczyk FZ, Maxson R, Dubeau L. 2010. Changes in teh mouse estrus cycle in

- response to BRCA1 inactivation suggest a potential link between risk factors for familial and sporadic ovarian cancer. *Cancer Res.* Vol. 70, No. 1.
- Hur, S. J., Lee, S. Y., Kim, Y.-C., Choi, I., & Kim, G.-B. 2014. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160.
- Hutahaean. 2013. *Perawatan Antenatal*. Jakarta: Salemba Medika
- Ibnu Rajab Al-Hambali. 2010 *Jaami' Al-'Ulum wa Al-Hikam*. Cetakan kesepuluh, Tahqiq: Syaikh Syu'aib Al-Arnauth dan Ibrahim Bajis. Penerbit Muassasah Ar-Risalah
- Inouye, M. 1976. Differential staining of cartilage & bone in fetal mouse skeleton by Alcian Blue & Alizarin red S. *Cong. Anom.* Vol. 161, No. 3.
- Ioannou, C., Javaid, M. K., Mahon, P., Yaqub, M. K., Harvey, N. C., Godfrey, K. M., Noble, J. A., Cooper, C., & Papageorgiou, A. T. 2012. The effect of maternal vitamin D concentration on fetal bone. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97(11), 2070–2077. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-2538>
- Ismudiono. 1999. *Fisiologi Reproduksi Ternak. Edisi Ketiga*. Surabaya : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Jakubczyk, K., Kałduńska, J., Kochman, J., & Janda, K. 2020. Chemical profile and antioxidant activity of kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants*, Vol. 9. No. 5.
- Jang, S. S., Parker, D., Chen, D., and Shaw, F., 2021. *Kombucha: Determining the Likelihood of Secondary Fermentation and Increased Ethanol Content Via Stated Sugar Content on Product Labels*.
- Jayabalan, R., Marimuthu, S., and Swaminathan, K. 2007. Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry*, Vol. 102, No. 1.
- Jayabalan, R., R.V. Malbaša, E.S. Lončar, J.S. Vitas, M. Sathishkumar. 2014. A review on kombucha tea-microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* Vol. 13, No. 4.
- Johnson, M.H. 2013. *Essential Reproduction. Ed 6*. London: Blackwell Publishing.
- Juliarta, I. G. E., Suwi, N. K. dan Seasih, N. L. E. 2020. Studi histomorfometri ovarium kambing peranakan etawah. *Jurnal Veteriner Udayana*, Vol. 12, No. 2.

- Junqueira, L. E., Carneiro, J., Kelley, R.O. 2005. *Basic Histology. Edisi 11*. Boston: Mc Graw -Hill.
- Kaewkod, Thida, Sakunnee Bovonsombut, and Yingmanee Tragoolpua. 2019. "Efficacy of kombucha obtained from green, oolong, and black teas on inhibition of pathogenic bacteria, antioxidation, and toxicity on colorectal cancer cell line". *Microorganisms* Vol. 7, No. 12.
- Kalla, A., Loucif, L., & Yahia, M. 2021. Prevention of congenital malformations for pregnant women : A predictive model based on a study in eastern Algeria ' s population. <https://doi.org/10.4081/jbr.2021.9394>
- Kanedi, M. 2020. Pengaruh lama perendaman alizarin red terhadap kadar warna rangka fetus mencit (*Mus musculus* L) untuk bahan praktikum dan penelitian di laboratorium. *International Multilingual Journal of Science and Technology (IMJST)*, Vol. 5, No. 11.
- Kapp, Jullie M and Walton Sumner. 2019. Kombucha: a systematic review of teh empirical evidence of human health benefit, *Annals of Epidemiology*. Vol 30.
- Keiver, K., & Weinberg, J. 2004. Effect of Duration of Maternal Alcohol Consumption on Calcium Metabolism and Bone in the Fetal Rat. 28(3), 456–467. <https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000118312.38204.C5>
- KEMENAG RI. 2006. *Al-Qur'an dan Terjemahnya*. Bandung : Diponegoro.
- Kementerian Agama Republik Indonesia. 2003. *Pedoman Labelisasi Halal*. Jakarta: Proyek Pembinaan Pangan Halal Direktorat Jendral Bimbingan Masyarakat Islam dan Penyelenggaraan Haji.
- Khaerah, A dan F. Akbar. 2019. Aktivitas antioksidan teh kombucha dari beberapa varian teh yang berbeda. *Prosiding Seminar Nasional LP2M UNM – 2019 “Peran Penelitian dalam Menunjang Percepatan Pembangunan Berkelanjutan di Indonesia”*.
- Kierszenbaum, A.L., 2002, *Endocrine System, Histology and Cell Biology, an Introduction to Pathology, Edisi Pertama*, Philadelphia : Mosby Inc.
- Kodaman, P. H., and H. S. Taylor. 2004. Hormonal regulation of implantation. *Obset Gynecol Clin N Am*. Vol. 31.
- Kole, A.S., H. D. Jones, R. Christensen, and J. Gladstein. 2009. “A case of kombucha tea toxicity,” *Journal of Intensive Care Medicine*, Vol. 24, No. 3.
- Kumar, K. S., Sastry, N., Polaki, H., and Mishra, V. 2015. Colon cancer prevention through probiotics: an overview. *J Cancer Sci Tehr*, Vol. 7, No. 2.

- Kumar, S.D., Narayan, G., Hassarajani, S., 2008. Determination of anionic minerals in black and kombucha tea using ion chromatography. *Food Chem.* Vol. 111.
- Kurta, A. 1995. *Mammals of teh Great Lakes Region*. Teh University of Michigan Press, Ann Arbor, Michigan.
- Lahiji, F. A., Asgari, F., Mirzaee, F., Zafarani, Z., & Aslani, H. 2019. International Journal of Surgery Case Reports Clinical and functional results of radial club hand with centralization and pollicization using the second metacarpus : A clinical case series. *International Journal of Surgery Case Reports*, 61, 285–290. <https://doi.org/10.1016/j.ijscr.2019.07.076>
- Lane, D.R. 1980. *Visceral System In Jone's Animal Nursing*, 3th. London : Ed.Pergamon Press.
- Laurence, D.R. and Bacharah, A.L. 1964. *Evaluation of Drugs Activities*. Academic Press, London and New York.
- Leala, Jessica Martinez, Lucía Valenzuela Suárez , Rasu Jayabalanb, Joselina Huerta Orosa and Anayansi Escalante-Aburtoa. 2018. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CYTA – Journal of Food*, Vol. 16, No. 1.
- Lee, JH. 2020. Vaginal plug formation and release in female hibernating Korean greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum* korai (Chiroptera: Rhinolophidae) during teh annual reproductive cycle. *Zoomorphology*, Vol. 139.
- Leeson, Roland. 1996. *Buku Ajar Histologi Edisi V*. Penerjemah: S. Koespart. Siswojo dkk. Jakarta: EGC
- Lestari, Kinanthi Ayu Puji dan Lailatus Sa'diyah. 2020. Karakteristik kimia dan fisik teh hijau kombucha pada waktu pemanasan yang berbeda. *Journal of Pharmacy and Science*. Vol. 5, No. 1.
- Lu., Frank. C. 1995. *Toksikologi Dasar Asas, Organ Sasaran, dan Penilaian. Resiko. Edisi II*, Penerjemah Edi Nugroho, 358, Jakarta : UI-Press.
- Mahmood, T., Akhtar, N., & Khan, B. A. 2010. Teh morphology, characteristics, and medicinal properties of *Camellia sinensis* tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 4, No. 19.
- Mahon, P., Harvey, N., Crozier, S., Inskip, H., Robinson, S., Arden, N., Swaminathan, R., Cooper, C., & Godfrey, K. 2010. Low maternal vitamin D status and fetal bone development: Cohort study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 25(1), 14–19. <https://doi.org/10.1359/jbmr.090701>
- Manami Inoue, Chisato Nagata. 2012. "Impact of alkohol intake on total mortality and mortality from major causes in japan: a pooled analysis of six large-

scale cohort studies," *Journal of Epidemiology and Community Health* 66, 5

- Manuaba, I.B.G. 2007. *Pengantar Kuliah Obstetri*. Jakarta: EGC.
- Marcus, R 1996 *Teh Narurc Of Osleoporosis in Osteoporcsis* Edited by R. Marcus. D- Feldntan and J. Kelsey. London : Academio Press London.
- Maria, V., Mohamad, K., & Boediono, A. 2014. Pemaparan gelombang elektromagnetik telepon genggam pada mencit (*Mus musculus albinus*) periode awal kebuntingan. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, Vol. 2, No. 1.
- Marwan bin Musa. 2010. *Tafsir Al Qur'an Al Karim. Hidayatul Insan. Jilid 1*.
- Mauleidy, P. A. 2021. Pengaruh ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) terhadap jumlah anakan mencit (*Mus musculus*) yang dipapar asap rokok. *Doctoral Dissertation*, UIN Raden Intan Lampung.
- McLean, A. C., Valenzuela, N., Fai, S., Bennett, S. A. L. 2012. Performing vaginal lavage, crystal violet staining, and vaginal cytological evaluation for mouse estrous cycle staging identification. *J. Vis. Exp.* Vol. 67.
- Mousavi, Seyyed Modjtaba, Seyyed Alireza Hashemi, Maryam Zarei, Ahmad Gholami, Chin Wei Lai, Wei Hung Chiang, Navid Omidifar, Sonia Bahrani, and Sargol Mazraedoost. 2020. Recent progress in chemical composition, production, and pharmaceutical effects of kombucha beverage: a complementary and alternative medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol. 2020.
- Muchtarromah, B. 2007. *Panduan Praktikum Struktur Perkembangan Hewan II*. Malang : Universitas Islam Negeri Malang.
- Murugesan GS, Sathishkumar M, Jayabalan R, Binupriya AR, Swaminathan K, Yun SE. 2009. Hepatoprotective and curative properties of Kombucha tea against carbon tetrachloride-induced toxicity. *J Microbiol Biotechnol*. Vol. 19, No. 4.
- Musa, T. W., Kariuki, K. J., Kasyoki, P. J., and Malik, A. N. 2019. Teh Maternal pregnancy outcomes following prenatal exposure to varied doses of alcohol in albino rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. Vol. 14, No. 4.
- Muti, Arintawati. 2004. *Produk Turunan Hewan dan Khamar*. Jakarta : LPPOM MUI
- Naland, H. 2004. *Kombucha Teh Ajaib : Pencegah dan Penyembuh Aneka Penyakit*. Agromedia Pustaka : Jakarta

- Nelly Karlinah, N. K. 2019. Pengetahuan Ibu Hamil Tentang Dampak Kafein Terhadap Kehamilan Dan Janin Di Desa Sei Rotan Kecamatan Percut Sei.Tuan Kabupaten Deli Serdang Tahun 2016. *Al-Insyirah Midwifery: Jurnal Ilmu Kebidanan (Journal of Midwifery Sciences)*, 8(2), 89–94. <https://doi.org/10.35328/kebidanan.v8i2.153>
- Ngatidjan, 1990. *Metode Laboratorium dalam Toksikologi*, reviewer: Hakim, L, Yogyakarta : Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gajah Mada.
- Nugroho, R. A., & Sudiastuti, S. 2018. Pengaruh ekstrak air daun sembung (*Paederia foetida* Linn.) terhadap morfometri dan kelulushidupan fetus mencit (*Mus musculus* L.). *Jurnal Biota*, Vol. 4 No.2.
- Nugroho, Rudy Agung. 2018. *Mengenal Mencit sebagai Hewan Laboratorium*. Kalimantan Timur : Mulawarman University Press.
- Nurchayani, Nuning, Yan Wirasti, Jamsari, Djong Hon Tjong and Mohammad Kanedi. 2017. Methanol plant extract of rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) causing fetal skeleton retardment in mice. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 4 No. 6.
- Nurhadianty, Vivi, Chandrawati Cahyani, Wa Ode Cakra Nirwana, Luthfi Kurnia Dewi. 2018. *Pengantar Teknologi Fermentasi Skala Industri*. Malang : UB Press.
- Nurikasari, Maulina Yenny Puspitasari, Retno Palupi Yoni Siwi. 2017. Characterization and analysis kombucha tea antioxidant activity based on long fermentation as a beverage functional. *Journal of Global Researching Public Health*, Vol. 2 No. 2.
- Olude, M. A., Mustapha, O. A., Ogunbunmi, T. K., & Olopade, J. O. 2013. The Vertebral Column, Ribs, and Sternum of the African Giant Rat (*Cricetomys gambianus* Waterhouse)
- Ong JP, Oehler G, Krüger-Jansen C, Lambert-Baumann J, Younossi ZM. 2011. Oral L-ornithine-L-aspartate improves health-related quality of life in cirrhotic patients with hepatic encephalopathy: an open-label, prospective, multicentre observational study. *Clin Drug Investig*. Vol. 31, No.4.
- Ott SM. 2002. Osteoporosis and bone physiology. *J Am Medic* Vol. 228.
- Pandey, S. 2016. Skeletal anomalies in fetal alcohol syndrome : A study on developing mice skeletal anomalies in fetal alcohol syndrome. June.
- Partodihardjo. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiara Sumber : Jakarta.
- Perron AD, Patterson JA, Yanofsky NN. Kombucha “mushroom” hepatotoxicity. *Ann Emerg Med*. 1995, Vol. 2.

- Pradana, G., & Priyono, D. 2021. Intoksikasi alkohol akibat minuman keras oplosan. *Jurnal Kesehatan Andalas*, Vol. V.
- Prasanth, M. I., Sivamaruthi, B. S., Chaivasut, C., & Tencomnao, T. 2019. A review of the role of green tea (*Camellia sinensis*) in anti-photoaging, stress resistance, neuroprotection, and autophagy. *Nutrients*, Vol. 11, No. 2.
- Pratiwi, A., dan Aryawati, R. 2012. Pengaruh waktu fermentasi terhadap sifat fisik dan kimia pada pembuatan minuman kombucha dari rumput laut *Sargassum* sp. *Maspari Journal: Marine Science Research*, Vol. 4, No. 1.
- Puja, I K., Suatha, I K., Heryani, S.S., Susari, N.N. W., Setiasih, N. L.E., 2010. *Embryologi Modern*. Udayana University Press. Denpasar.
- Purnama, M. T. E., Pratiya, R. A., & Saputro, A. L. 2018. Potensi toksin binders untuk mengurangi efek mikotoksin zearalenon terhadap panjang, bobot, dan jumlah fetus mencit. *Jurnal Veteriner*, Vol. 19, No. 3.
- Purnami, Ketut Ita, A.A.G.N. Anom Jambe, Ni Wayan Wisaniyasa. 2018. Pengaruh jenis teh terhadap karakteristik teh kombucha. *Jurnal ITEPA*, Vol. 7 No. 2.
- Purwanti, I. 2013. Uji total asam dan organoleptik dalam pembuatan yoghurt susu kacang hijau (*Phaseolus radiatus*) dengan penambahan ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L). *Doctoral dissertation*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Radiopoetro. 1998. *Zoologi*. Jakarta : Penerbit Airlangga.
- Ramadhani, S. A., Supriatna, I., Karja, N. W. K., & Winarto, A. 2017. Pengendalian Folikulogenesis Ovarium dengan Pemberian Ekstrak Biji Kapas. *Jurnal Sains Veteriner*, Vol. 35, No. 1.
- Ramadoss, J., Hogan, H. A., Given, J. C., West, J. R., & Cudd, T. A. 2006. Binge alcohol exposure during all three trimesters alters bone strength and growth in fetal sheep. *Alcohol*, Vol. 38, No. 3.
- Ratanamarno, S., & Surbkar, S. 2017. Caffeine and catechins in fresh coffee leaf (*Coffea arabica*) and coffee leaf tea. *Maejo International Journal of Science and Technology*, Vol. 11 No, 3.
- Report, C. 2020. *Clinical and Research Journal in Internal Medicine*. 01(2), 110–112.
- Ridwan, Endy Novryan, Martono Tri Utomo and Harianto Notopuro. 2020. The effect of cigarette smoke exposure in the fetal growth and fetal development of mice (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Universitas Airlangga*, Vol. 11. No. 1.

- Riswanto, D., Rezaldi, F., & Program, P. S. 2021. Kombucha Tea : A Study On The Halal. 1(2), 71–77.
- Ritter, E.J. 1977. *Altered Biosyntehsis In: Hand Book of Teratology. Vol 2.* Edited by J.G. Wilson and F.C. Fraster. New York: Plenum Press.
- Roderick T. H., Wimer R. E., Wimer C. C., and Schwartzkroin P. A. 1973. Genetik and phenotypic variation in weight of brain and spinal cord between inbred strains of mice. *Brain Res.* 64, 345-353.
- Rohmani, A., Shafie, M. S., & Nor, F. M. 2021. Sex estimation using the human vertebra : a systematic review. 2.
- Royce J. R. 1972 Avoidance conditioning in nine strains of inbred mice using optimal stimulus parameters. *Behav. Genet.* 2, 107-110.
- Sagi, M. 1994. *Embriologi Perbandingan pada Vertebrata.* Yogyakarta : UGM Press.
- Saini, Shivi, Neena Nair and Mali Ram Saini. 2013. Embryotoxic and teratogenic effects of nickel in swiss albino mice during organogenetik period. *BioMed Research International.* Vol, 2013.
- Salafzoon, Samaneh, Mahmoodzadeh Hosseini, Hamideh and Halabian, Raheleh. 2018. Evaluation of teh antioxidant impact of ginger-based kombucha on teh murine breast cancer model. *Journal of Complementary and Integrative Medicine,* Vol. 15, No. 1.
- Saraf-Bank, S., Tehrani, H., Haghighatdoost, F., Moosavian, S. P., & Azadbakht, L. 2018. Teh acidity of early pregnancy diet and risk of gestational diabetes mellitus. *Clinical Nutrition,* Vol. 37, No. 6.
- Sari, T. A. 2017. Pengaruh air lindi sludge sampah tpa sarimukti terhadap perkembangan embrio praimplantasi mencit (*Mus Musculus* L.) Sw. *Jurnal Faktor Exacta.* ISSN: 1979-276X.
- Sayed, M. E. S., Ali, N., & Ali, Z. E. S. 2005. Interaction between alkohol and exercise: physiological and haematological implications. *Sports Medicine,* 35.
- Sbrana, M., Grandi, C., Brazan, M., Junquera, N., Stevaux-Nascimento, M., Antonio-Barbieri, M., Bettiol, H., & Cunha-Cardoso, V. 2016. Alkohol consumption during pregnancy and perinatal results: A cohort study. *São Paulo Medical Journal,* Vol. 134, No. 2.
- Sebastian, G., Borrás-Novell, C., Alsina Casanova, M., Pascual Tutusaus, M., Ferrero Martínez, S., Gómez Roig, M. D., and García-Algar, O. 2018. Teh effects of alkohol and drugs of abuse on maternal nutritional profile during pregnancy. *Nutrients.* Vol. 10, No. 8.

- Seibel MJ, 2005. Biochemical markers of bone turnover part i: biochemistry and variability. *Clin Biochem. Rev* 26.
- Sengun, I. Y., and Kirmizigul, A. 2020. Probiotic potential of kombucha. *Journal of Functional Foods*.
- Setyawati, I., Yulihastuti, D. A., Hewan, P., & Hewan, L. F. 2011. Penampilan reproduksi dan perkembangan skeleton fetus mencit setelah pemberian ekstrak buah nanas muda. *Jurnal Veteriner*, Vol. 12, No. 3.
- Shahbazi, H., Hashemi Gahruei, H., Golmakani, M. T., Eskandari, M. H., & Movahedi, M. 2018. Effect of medicinal plant type and concentration on physicochemical, antioxidant, antimicrobial, and sensorial properties of kombucha. *Food Science & Nutrition*, Vol. 6, No. 8.
- Shangguan, Y., Jiang, H., Pan, Z. 2018. Glucocorticoid mediates prenatal caffeine exposure-induced endochondral ossification retardation and its molecular mechanism in female fetal rats. *Cell Death Dis*.
- Shiferaw Terefe N, Augustin MA. 2020. Fermentation for tailoring the technological and health related functionality of food products. *Crit Rev Food Sci Nutr*. Vol. 60, No. 17.
- Silviana, E., Handayani, R., & Askani, I. 2021. Uji diuretik air nira (*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.) terhadap Mencit (*Mus musculus*) Jantan. *Jurnal Ilmiah Farmasi Simplisia* (JIFS), Vol. 1, No. 1.
- Smith dan Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta : UI Press.
- Soenyoto, E. 2017. Pengaruh dosis pupuk biokompos dan dosis pupuk sp-36 terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman jagung manis (*Zea mays* Saccharata L.) varietas f1 hibrida talenta. *Jurnal Ilmiah Hijau Cendekia*, Vol. 2, No. 1.
- Soewolo. 2010. *Pengantar Anatomi Fisiologi Hewan*. Jakarta : Dirjen Dikti Depdiknas.
- Sousa, M. C. De, Raquel, M., Biserra, M. A., César, B., Costa, A., Esteves, S., Camargo, A., Rode, S. D. M., Ramos, C. J., Oliveira, L. D. De, Marotta, L., & Vasconcellos, R. De. 2018. Influence of Chronic Alcohol Use on Osteoblastic Differentiation of Bone Marrow Cells , Bone Properties , and Hepatic and Renal Morphology of Rats. 2018.
- Southwick C. H. and Clark L. H. 1966 Aggressive behaviour and exploratory activity in fourteen mouse strains. *Am. Zool*. 6, 559.
- Stein, G. S., Lian, J. B., Stein, J. L., Van Wijnen, A. J., & Montecino, M. 1996. Transcriptional control of osteoblast growth and differentiation. *Physiological Reviews*, Vol. 76, No. 2.

- Stevenson JS, Marsh MS. 1992. *An Atlas of Osteoporosis*. New Jersey : Parthenon Publishing Group.
- Storer J. B. 1966. Longevity and gross pathology at death in 22 inbred strains of mice. *J. Gerontol.* 21, 404-409.
- Suprihatin. 2010. *Teknologi Fermentasi*. Surabaya : Penerbit UNESA University Press.
- Sutomo, Adisti Erlina, Trully D Sitorus and Adhi Pribadi. 2015. Teh teratogenic effect of teh mindi (*Melia azedarach* L) leaves ethanol extract on mice (*Mus musculus*) Fetus. *Alteha Medical Journal*, Vol. 2 No. 2.
- Syaikh Abu Bakar Jabir. 2015. *Aisarut Ta- fasir li Kalami Al 'Aliyyi Al Kabir*. Kairo: Darul Hadist, cet. -. Al-Jazairi.
- Syaikh Sa'ad bin Nashir bin 'Abdul 'Aziz Asy-Syatsri. 2009. *Syarh Al-Arba 'in An-Nawawiyah Al-Mukhtashar*. Cetakan pertama, Tahun 1431 H. Penerbit Dar Kanuz Isybiliya
- Sylvia, P. A., Lorraine Mc. Carty Wilson. 2006. *Patofisiologi : Konsep Klinis. Proses-proses Penyakit, Edisi 6, (terjemahan), Peter Anugrah*. Jakarta : EGC.
- Talebi, M., Frink, L. A., Patil, R. A., & Armstrong, D. W. 2017. Examination of teh varied and changing ethanol content of commercial kombucha products. *Food Analytical Methods*, Vol. 10, No. 12.
- Tan Y, Lu K, Li J, Ni Q, Zhao Z, Magdalou J, Chen L, Wang H. 2018. Prenatal caffeine exposure increases adult female offspring rat's susceptibility to osteoarthritis via low-functional programming of cartilage IGF-1 with histone acetylation. *Toxicol Lett*.
- Tan, W. C., Muhiaddin, B. J., & Meor Hussin, A. S. 2020. Influence of storage conditions on teh quality, metabolites, and biological activity of soursop (*Annona muricata*. L.) kombucha. *Frontiers in Microbiology*, Vol. 11.
- Telford, I.R., and Bridgman, C.F., 1995, *Male Reproductive System. Introduction to Functional Histology, 2nd Ed*, Harper Collins College Publisher.
- Thomas. 2012. *Tanaman Obat Tradisional 1*, Yogyakarta : Kanisius.
- Timmermans, S., Van Montagu, M., & Libert, C. 2017. Complete overview of protein-inactivating sequence variations in 36 sequenced mouse inbred strains. *Proceedings of teh National Academy of Sciences of teh United States of America*, Vol. 114 No. 34.
- Tita, Damayanti. 2020. *Ilmu Reproduksi Ternak*. Surabaya : Airlangga University

- Toelihere, M.R. 1979. *Fisiologi Reproduksi pada Ternak*. Bandung : Penerbit Angkasa.
- Tortora, G. J., & Derrickson, B. 2009. *Principles of Anatomy & Physiology*. USA: John Wiley & Sons. Inc.
- Türkmen, M., Temoçin, K., Acar, Ç., Levi, E., & Karaman, C. (2003). Short rib-polydactyly syndrome : A case report Short rib-polydactyly syndrome : a case report. October.
- Vall, O., Salat-Batlle, J., & Garcia-Algar, O. 2015. Alcohol consumption during pregnancy and adverse neurodevelopmental outcomes. *Journal of Epidemiology and Community Health*, Vol. 69 No. 10.
- Van Der Hoeven, T., Browne, J. L., Cuno, S. P. M. U., Cornelis K Van, D. E., Grobbee, D. E., & Dalmeijer, G. W. 2017. Antenatal coffee and tea consumption and teh effect on birth outcome and hypertensive pregnancy disorders. *PLoS One*, Vol. 12, No. 5.
- Villarreal-Soto, S. A, S. Beaufort, J. Bouajila, J.P. Souchard, P. Taillandier. 2018. Understanding kombucha tea fermentation: a review. *J Food Sci*, Vol. 83, No. 3.
- Vina, I., Semjonovs, P., Linde, R., & Patetko, A. 2013. Glucuronic acid containing fermented functional beverages produced by natural yeasts and bacteria associations. *International Journal of Research and Reviews in Applied*, 14, 17-25.
- Vishnoi, H., Bodla, R. B., & Kant, R. 2018. Green tea (*Camellia sinensis*) and its antioxidant property: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, Vol. 9, No. 5.
- Vitas, J., Malbasa, R., Grahovac, J., & Loncar, E. 2013. Teh antioxidant activity of Kombucha fermented milk products with stinging nettle and winter savory. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, Vol. 19, No. 1.
- Wahyuningrum, Marlina Rully dan Enny Probosari. 2012. Pengaruh pemberian buah pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap kadar trigliserida pada tikus sprague dawley dengan hiperkolesterolemia. *Journal of Nutrition College*. Vol. 1, No. 1.
- Wang, K., Gan, X., Tang, X., Wang, S., & Tan, H. 2010. Determination of d-saccharic acid-1, 4-lactone from brewed kombucha broth by high-performance capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B*, Vol. 878, No. 3-4.
- Waters, C. M., Vannucci, L., Fossi, C., Quattrini, S., Guasti, L., Pampaloni, B., Gronchi, G., Giusti, F., Romagnoli, C., Cianferotti, L., Marcucci, G., &

- Brandi, M. L. 2018. Calcium Intake in Bone Health : A Focus on. 10, 1–12. <https://doi.org/10.3390/nu10121930>
- Winarsih, Sri. 2008. *Ensiklopedia Dunia Fungi*. Semarang : ALPRIN
- Winters, J. N., & Maduakolum, E. (n.d.). the Hand : Preventing Stiffness. 1–9. <https://doi.org/10.1097/GOX.00000000000003871>
- Wischnitzer. 1967. *Anatomy : Atlas and Dissection Guide For ComparativeAnatomy*. 2th Ed. W. H. San Fransisco : Freeman and Company.
- Wolde, T. 2014. Effects of caffeine on health and nutrition: a review. *Food Sci. Qual. Manag.* Vol. 30.
- Yatim, W. 1996. *Embriologi*. Bandung: Penerbit Tarsito.
- Yavari, N., Mazaheri-Assadi, M., Mazhari, Z. H., Moghadam, M. B., & Larijani, K. 2018. Glucuronic acid rich kombucha-fermented pomegranate juice. *Journal of Food Research*, Vol. 7, No. 1.
- Zhang, P., Wang, G., Lin, Z., Wu, Y., Zhang, J., Liu, M., & Yang, X. 2017. Alcohol exposure induces chick craniofacial bone defects by *menurunkan* affecting cranial neural crest development. *Toxicology Letters*, Vol. 281.
- Zowail, M.E.M., Khater, E.H.H., dan El-Asrag, M.E.M. 2009. Protective effect of green tea extract against cytotoxicity induced by enrofloxacin in rat egypt Acad. *Journal Biology Science*. Vol. 1, No. 1.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Hasil pengujian laboratorium terkait kandungan alkohol pada kombucha teh hijau

|                                                                                   |                         |                                                                                                                                                                              |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |                         | <b>PT MaxZer Solusi Steril</b><br>Nutrition Fact And Food Safety Analysis Laboratory<br>Jl. Eka Bakti No.20, Malang 65126, Telp. 4373093 (114) - www.maxzersteril.com/maxzer |
| <b>LAPORAN HASIL PENGUJIAN</b><br>Nomor LHI/20220125005/01                        |                         |                                                                                                                                                                              |
| 1                                                                                 | Nomor                   |                                                                                                                                                                              |
| 1.1                                                                               | Nomor Sampel            | : 20220110001                                                                                                                                                                |
| 2                                                                                 | Pelanggan/pemberi order |                                                                                                                                                                              |
| 2.1                                                                               | Nama                    | : Zharivah Abdattilah                                                                                                                                                        |
| 2.2                                                                               | Alamat                  | : Jl. Sunan Ampel I No.9, Kel. Dinoyo, Kec. Lowokwaru, Malang, Jawa Timur                                                                                                    |
| 2.3                                                                               | Telp                    | : 085776289565                                                                                                                                                               |
| 2.4                                                                               | Email                   | : zharivah99@gmail.com                                                                                                                                                       |
| 2.5                                                                               | Personel penghubung     | : -                                                                                                                                                                          |
| 3                                                                                 | Contoh Uji              |                                                                                                                                                                              |
| 3.1                                                                               | Nama Sampel             | : Teh kombucha (green tea)                                                                                                                                                   |
| 3.2                                                                               | Kode Sampel             | : -                                                                                                                                                                          |
| 3.3                                                                               | Tanggal Produksi        | : -                                                                                                                                                                          |
| 3.4                                                                               | Tanggal kadaluarsa      | : -                                                                                                                                                                          |
| 3.5                                                                               | Nama Dagang             | : -                                                                                                                                                                          |
| 3.6                                                                               | Kemasan                 | : Botol kaca                                                                                                                                                                 |
| 3.7                                                                               | Tanggal Terima          | : 10 Januari 2022                                                                                                                                                            |
| 3.8                                                                               | Tanggal Uji             | : 14 – 27 Januari 2022                                                                                                                                                       |
| 3.9                                                                               | Jenis Uji               | : Terlampir                                                                                                                                                                  |
| 4                                                                                 | Hasil Uji               |                                                                                                                                                                              |
|                                                                                   | Hasil uji di halaman 2  |                                                                                                                                                                              |

Page 1 of 2 Rev.01

Hasil laporan uji ini hanya berlaku untuk contoh-contoh tersebut diatas dan tidak boleh digandakan kembali seluruhnya.  
Penggunaan hasil uji untuk hal-hal yang lain menjadi tanggungjawab pemberi order.



# PT MaxZer Solusi Steril

Nutrition Fact And Food Safety Analysis Laboratory

Jl. Karya Bakti No.20 Malang 65126-5341 4773073-71141 www.maxzersteril.com/indonesia

## LAPORAN HASIL PENGUJIAN

Nomor LHIJ/20220125006/01

| No. | Parameter Uji | Satuan | Hasil Uji | Batas Deteksi | Metode                            |
|-----|---------------|--------|-----------|---------------|-----------------------------------|
| 1   | Alkohol       | %      | 0.56      | -             | 18-6-4/MU/SMM-SIG (GC Head space) |

Malang, 27 Januari 2022



PT. MaxZer Solusi Steril  
Titik Nur Fauza S.Si., M.P.  
Technical Manager

Page 2 of 2 Rev.01

Hasil laporan uji ini hanya berlaku untuk contoh-contoh tersebut diatas dan tidak boleh digandakan kecuali seluruhnya.  
Penggandaan hasil uji untuk hal-hal yang lain menjadi tanggungjawab pemberi order.

## Lampiran 2. Dokumentasi penelitian

|                                                                                     |                                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|   |   |
| <p>Pengecekan estrus mencit (<i>Mus mucus</i>) dengan apusan vagina</p>             | <p>Pengecekan berat badan mencit</p>                                                 |
|  |  |
| <p>Fetus mencit yang masih terselubungi amnion</p>                                  | <p>Pembedahan mencit di atas parafin</p>                                             |



**Pemberian teh hijau ke mencit bunting**



**Fetus yang telah dibersihkan cairan amniotiknya**



**Fetus yang telah selesai diviscerasi dan dimasukkan dalam KOH 1%**



**Perendaman fetus dalam alkohol 70%**



**Pewarnaan fetus dalam Alizarin Red S 0,01%**



**Penjeruhan bertingkat fetus dalam KOH : gliserin**

### Lampiran 3. Bukti konsultasi pembimbing Biologi



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
PROGRAM STUDI BIOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

#### KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama Zharirah Abdatilah  
NIM 17620100  
Program Studi Biologi  
Semester Genap 2022 / 2023  
Pembimbing Kholifah Holil M. Si.  
Judul Skripsi Pengaruh Teh Hijau Kombucha (*Camelia sinensis*) terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan *Costae Fluktuantes* dan Metacarpal Fetus Mencit (*Mus musculus*) secara In Vivo

| No  | Tanggal      | Uraian Materi Konsultasi                       | Ttd. Pembimbing |
|-----|--------------|------------------------------------------------|-----------------|
| 1.  | 06/02/2021   | Konsultasi pengajuan judul proposal penelitian | /               |
| 2.  | 16/03/2021   | Konsultasi pengajuan bab 1 dan bab 3           | /               |
| 3.  | 15/07/2021   | Konsultasi pengajuan bab 1 revisi kedua        | /               |
| 4.  | 31/08/2021   | Konsultasi pengajuan bab 1 revisi ketiga       | /               |
| 5.  | 21/09/2021   | Konsultasi pengajuan bab 1 revisi keempat      | /               |
| 6.  | 29/09/2021   | Konsultasi pengajuan bab 1 revisi kelima       | /               |
| 7.  | 01/10/2021   | Konsultasi pengajuan bab 3                     | /               |
| 8.  | 07/10/2021   | Konsultasi pengajuan bab 3 revisi kedua        | /               |
| 9.  | 16/10/2021   | Konsultasi pengajuan bab 3 revisi ketiga       | /               |
| 10. | 08/11/2021   | Konsultasi pengajuan bab 2                     | /               |
| 11. | 03/12/2021   | ACC Seminar proposal                           | /               |
| 12. | 26/04/2021   | Konsultasi bab 4 sub bab 1                     | /               |
| 13. | 28/04/2021   | Konsultasi bab 4 sub bab 1 kedua               | /               |
| 14. | 9-13/05/2021 | Konsultasi bab 4 sub bab 1                     | /               |
| 15. | 30/05/2021   | Konsultasi bab 4 sub bab 2                     | /               |
| 16. | 7/06/2021    | ACC Skripsi                                    | /               |
|     |              |                                                |                 |
|     |              |                                                |                 |
|     |              |                                                |                 |
|     |              |                                                |                 |
|     |              |                                                |                 |
|     |              |                                                |                 |
|     |              |                                                |                 |

Pembimbing Skripsi,



Kholifah Holil, M. Sc.  
NIP.197511062009122002

Malang, 2022  
Kebudayaan Program Studi,



Dr. Erika Sandi Savitri, M.P  
NIP.197410182003122002

3  
1)

## Lampiran 4. Bukti konsultasi pembimbing Agama



KEMENTERIAN AGAMA

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax (0341) 558933

### KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Zharivah Abdatilah  
NIM : 17620100  
Program Studi : SI Biologi  
Semester : Genap 2022 / 2023  
Pembimbing : Mujahidin Ahmad M. Sc.  
Judul Skripsi : Pengaruh Teh Kombucha Hijau (*Camellia sinensis*) terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan *Costae* dan *Motakarpal Meneil*.

| No | Tanggal    | Uraian Materi Konsultasi                 | Ttd. Pembimbing |
|----|------------|------------------------------------------|-----------------|
| 1. | 08/11/2021 | Konsultasi ayat integrasi                |                 |
| 2. | 11/12/2021 | Konsultasi ayat integrasi revisi pertama |                 |
| 3. | 04/06/2022 | Konsultasi integrasi ayat-ayat skripsi   |                 |
| 4. | 06/06/2022 | Konsultasi integrasi ayat skripsi bab 4  |                 |
| 5. | 07/06/2022 | ACC skripsi                              |                 |
|    |            |                                          |                 |
|    |            |                                          |                 |
|    |            |                                          |                 |
|    |            |                                          |                 |
|    |            |                                          |                 |
|    |            |                                          |                 |

Pembimbing Skripsi,

Mujahidin Ahmad M. Sc  
NIP. 198605122019031002

Malang, Juni 2022

Kons Program Studi,



Dr. Evikandhi Savitri, M.P  
NIP. 197410182003122

## Lampiran 5. Bukti check plagiasi



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933  
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

### Form Checklist Plagiasi

**Nama** : Zharivah Abdatilah  
**NIM** : 17620100  
**Judul** : Pengaruh Teh Hijau Kombucha (*Camellia sinensis*) terhadap  
Costae dan Metakarpal Skeleton Fetus Mencit (*Mus musculus*)  
secara *Invivo*

| No | Tim Checkplagiasi              | Skor Plagiasi | TTD |
|----|--------------------------------|---------------|-----|
| 1  | Tyas Nyonita Pujungsari M, Sc. | 24 %          |     |
| 2  | Berry Fakhry Hanifa, M.Sc      |               |     |
| 3  | Bayu Agung Prahardika, M.Si    |               |     |

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Biologi  
  
Dr. Erika Sandi Savitri, M. P  
NIP. 19741018 200312 2 002