

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG JAHE MERAH  
(*Zingiber officinale* var. *Rubra*) TERHADAP LAMA SIKLUS ESTRUS TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) STRAIN WISTAR BETINA DEWASA**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2018**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG JAHE MERAH  
(*Zingiber officinale* var. *Rubra*) TERHADAP LAMA SIKLUS ESTRUS TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) STRAIN WISTAR BETINA DEWASA

Oleh:

Gheza Dearysma Kinanti Putri  
NIM 145070601111029

Telah diuji pada

Hari : Jumat  
Tanggal : 23 Februari 2018  
dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes  
NIP. 195210271981032001

Pembimbing I / Penguji II

Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes  
NIP. 197511252005012001

Pembimbing II / Penguji III

dr. Maya Devi Arifiandi, Sp. OG  
NIP. 2016097902032001

Mengetahui,

Ketua Program Studi S1 Kebidanan



Linda Ratna Wati, S.ST, M.Kes  
NIP. 198409132014042001



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'aalamiin, segala puji bagi Allah SWT, yang telah memberikan ridha dan petunjuknya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir berjudul "Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) terhadap Lama Siklus Estrus Tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Betina Dewasa".

Ketertarikan penulis dengan penelitian ini dilatarbelakangi oleh permasalahan tingginya angka pertumbuhan penduduk di Indonesia. Salah satu hal yang dapat mengatasi permasalahan tersebut adalah program Keluarga Berencana (KB) dengan metode kontrasepsi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah terhadap lama siklus estrus tikus strain wistar betina.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih tak terhingga kepada:

1. Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes sebagai pembimbing pertama yang dengan sabar membimbing, telah banyak membagikan ilmu dan koreksi terkait penelitian dan penulisan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
2. dr. Maya Devi Arifiandi, Sp.OG sebagai pembimbing kedua yang telah banyak memberikan masukan, semangat dan motivasi selama melakukan penelitian sehingga peneliti dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes sebagai Ketua Tim Penguji Ujian Tugas Akhir yang telah memberikan masukan dan koreksi dalam penyempurnaan naskah Tugas Akhir ini.

4. Bu Linda Ratnawati, S.ST, M.Kes sebagai Ketua Program Studi S1 Kebidanan yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di PS S1 Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
5. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes, dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan penulis menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB yang telah membantu melancarkan urusan administrasi sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir.
7. Para laboran dan petugas di Laboratorium Farmakologi yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.
8. Orang tua tercinta, Bapak Harry Soekartono dan Ibu Marmaningrum, serta kakak Gea atas segala perhatian, motivasi, serta kasih sayangnya.
9. Teman-teman satu tim penelitian, Firzani Fatma dan Anggun Pitaloka, atas kerjasama dan kerja kerasnya selama di laboratorium.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penelitian dan karya ilmiah ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 12 Februari 2018

Penulis

## ABSTRAK

Putri, Gheza Dearysma Kinanti. 2018. ***Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (Zingiber Officinale var. Rubra) terhadap Lama Siklus Estrus Tikus (Rattus Norvegicus) Strain Wistar Betina Dewasa***. Tugas Akhir, Program Studi S1 Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes (2) dr. Maya Devi Arifiandi, Sp.OG.

Salah satu upaya mewujudkan keseimbangan pertumbuhan penduduk adalah dengan program Keluarga Berencana (KB), salah satunya menggunakan metode kontrasepsi. Proses maturasi dan rupturnya folikel dalam siklus reproduksi melibatkan peran prostaglandin dan enzim siklooksigenase-2 (COX-2) yang juga merupakan mediator inflamasi. Jahe merah mengandung senyawa gingerol dan shogaol yang memiliki efek antiinflamasi melalui hambatan sintesis prostaglandin dan aktivitas COX-2. Sehingga ekstrak etanol rimpang jahe merah diyakini dapat menghambat proses maturasi folikel dan mempengaruhi lama siklus estrus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) terhadap lama siklus estrus tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar betina dewasa. Penelitian ini bersifat eksperimental murni dengan rancangan *Pre-Test and Post-Test with Control Group Design*. Lama siklus estrus diketahui dengan melakukan identifikasi fase estrus dari preparat sitologi apusan vagina yang dilakukan setiap hari pukul 08.00-09.00 sebelum dan setelah perlakuan. Sampel dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yaitu kontrol; P1 (0,3 gr/kgBB); P2 (0,6 gr/kgBB); dan P3 (1,2 gr/kgBB). Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama siklus estrus antara kelompok-kelompok perlakuan tidak menghasilkan perbedaan yang bermakna ( $p>0,05$ ). Pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah mungkin hanya menghambat tahapan ovulasi yang paling akhir yaitu proses rupturnya folikel, namun tidak mempengaruhi tahapan hormonal dari siklus reproduksi sehingga tidak menyebabkan perubahan lama siklus estrus. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah tidak menyebabkan perubahan lama siklus estrus pada tikus betina dewasa.

Kata kunci : ekstrak etanol rimpang jahe merah, lama siklus estrus, sitologi apusan vagina



## ABSTRACT

Putri, Gheza Dearysma Kinanti. 2018. ***Effect of Red Ginger Roots Ethanolic Extract (Zingiber Officinale var. Rubra) to the Duration of Estrous Cycle of Adult Female Wistar Rats (Rattus Norvegicus)***. Final Assignment, Bachelor of Midwifery Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes (2) dr. Maya Devi Arifiandi, Sp.OG.

The effort to realize the balance of population growth is the family planning program or *Keluarga Berencana* (KB), by using contraceptive methods. In the reproductive cycle, the maturation process and rupture of the follicles are involved the role of prostaglandin and cyclooxygenase-2 (COX-2) enzyme which is known as the mediator of inflammation. Red ginger contains gingerols and shogaols which is known for their antiinflammation effect by suppressing the synthesis of prostaglandin and COX-2 activities. So that, the ethanolic extract of red ginger roots may suppress the maturation process of the follicles until it gives an effect to the duration of estrous cycle. This research is aimed to know the effect of red ginger roots (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) ethanolic extract to the duration of estrous cycle of adult female wistar rats (*Rattus norvegicus*). This study is pure experimental by using pre-test and post-test with control group design. The duration of estrous cycle is known by identifying the estrous phase from the preparations of vaginal cytology performed every day at 8-9 a.m before and after treatment. Samples are divided into four treatment groups including control; P1 (0.3 gr/kgBB); P2 (0.6 gr/kgBB); and P3 (1.2 gr/kgBB). This study found that there was no significant difference in the duration of estrous cycles between treatment groups ( $p>0,05$ ). Administration of red ginger roots ethanolic extract might only suppress the last stages of ovulation that was the process of follicles rupture, but it was not affect the duration of estrous cycle. From this study, it can be concluded that administration of red ginger roots ethanolic extract does not affect the duration of adult female rat's estrous cycle.

Keywords : red ginger roots ethanolic extract, duration of estrous cycle, vaginal cytology

## DAFTAR ISI

	Halaman
Judul.....	i
Lembar Pengesahan .....	ii
Kata Pengantar .....	iii
Abstrak .....	v
Abstract .....	vi
Daftar Isi .....	vii
Daftar Gambar .....	xi
Daftar Tabel .....	xii
Daftar Singkatan .....	xiii
Daftar Lampiran .....	xiv
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan Umum .....	4
1.3.2 Tujuan Khusus .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.4.1 Manfaat Akademis .....	5
1.4.2 Manfaat Praktis .....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Kontrasepsi dan Keluarga Berencana .....	6
2.1.1 Definisi dan Tujuan .....	6
2.1.2 Cakupan Penggunaan Kontrasepsi .....	7
2.1.3 Jenis-Jenis Kontrasepsi Secara Umum .....	9
2.2 Kontrasepsi Oral .....	10
2.2.1 Definisi dan Jenis Kontrasepsi .....	10
2.2.2 Mekanisme Aksi .....	11
2.3 Kontrasepsi Herbal .....	12
2.4 Siklus Reproduksi .....	12
2.4.1 Siklus Reproduksi Tahap Aksis HPO .....	12
2.4.2 Peran Prostaglandin dan Siklooksigenase .....	14
2.4.3 Peran Inflamasi dalam Siklus Reproduksi .....	16
2.5 Jahe Merah .....	17
2.5.1 Definisi dan Karakteristik .....	17
2.5.2 Kandungan Kimia .....	19
2.5.3 Pengaruh Jahe terhadap Prostaglandin dan Siklooksigenase ....	21

2.6 Tikus Wistar .....	23
2.7 Siklus Estrus Tikus .....	24
2.7.1 Definisi dan Karakteristik .....	24
2.7.2 Perubahan Hormonal pada Siklus Estrus .....	26
2.7.3 Fase pada Siklus Estrus .....	27
2.7.3.1 Proestrus .....	27
2.7.3.2 Estrus .....	28
2.7.3.3 Metestrus .....	29
2.7.3.4 Diestrus .....	30

### **BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS**

3.1 Kerangka Konsep .....	32
3.2 Hipotesis Penelitian .....	34

### **BAB 4. METODE PENELITIAN**

4.1 Rancangan Penelitian .....	35
4.2 Populasi dan Sampel .....	35
4.2.1 Kriteria Inklusi .....	36
4.2.2 Kriteria Eksklusi .....	37
4.3 Variabel Penelitian .....	37
4.4 Waktu dan Tempat Penelitian .....	37
4.5 Bahan dan Alat Penelitian .....	38
4.6 Definisi Operasional .....	39
4.7 Prosedur Penelitian .....	40
4.7.1 Persiapan dan Pemeliharaan Hewan Coba .....	40
4.7.2 Pengambilan Sampel Sitologi dan Pewarnaan Preparat Apusan Vagina .....	40
4.7.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah .....	41
4.7.4 Pemberian Perlakuan pada Hewan Coba .....	43
4.8 Diagram Alur Penelitian .....	45
4.9 Analisis Data .....	46

### **BAB 5. HASIL PENELITIAN**

5.1 Karakteristik Sampel .....	47
5.2 Hasil Pengamatan Preparat Sitologi Apusan Vagina .....	47
5.3 Hasil Penelitian .....	48
5.3.1 Hasil Perhitungan Lama Siklus Estrus .....	48
5.3.2 Gambaran Perubahan Lama Setiap Siklus .....	50
5.4 Hasil Analisis Data .....	52

### **BAB 6. PEMBAHASAN**

6.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Jahe Merah terhadap Lama Siklus Estrus ....	54
6.2 Keterbatasan Penelitian .....	58





<b>BAB 7. PENUTUP</b>	
7.1 Kesimpulan .....	59
7.2 Saran .....	59
<b>Daftar Pustaka .....</b>	<b>61</b>
<b>Lampiran .....</b>	<b>66</b>



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Ilustrasi Peran Progesteron dan Prostaglandin terhadap Peningkatan Aktivitas Proteolitik Selama Proses Ovulasi .....	15
Gambar 2.2 Rimpang Jahe Merah ( <i>Zingiber officinale</i> var. <i>Rubra</i> ) .....	18
Gambar 2.3 Struktur Kimia dari Beberapa Jenis Senyawa Gingerol dan Shogaol yang Diisolasi dari Rimpang Jahe .....	20
Gambar 2.4 Inhibisi terhadap PGE <sub>2</sub> oleh Senyawa-Senyawa Gingerol dan 6-shogaol .....	22
Gambar 2.5 Efek Senyawa 8-shogaol dan 10-shogaol terhadap Aktivitas COX-1 dan COX-2 .....	23
Gambar 2.6 Identifikasi Fase Estrus dengan Metode Pengamatan Lubang Vagina pada Tikus Albino .....	25
Gambar 2.7 Pola Konsentrasi Serum Estradiol, Progesteron, dan LH pada Siklus Estrus Tikus .....	27
Gambar 2.8 Penampakan Sitologi Vagina Tikus Fase Proestrus .....	28
Gambar 2.9 Penampakan Sitologi Vagina Tikus Fase Estrus .....	29
Gambar 2.10 Penampakan Sitologi Vagina Tikus Fase Metestrus .....	30
Gambar 2.11 Penampakan Sitologi Vagina Tikus Fase Diestrus .....	30
Gambar 2.12 Prosentase Sel Epitel dan Leukosit Apusan Vagina Tikus pada Setiap Fase Estrus dan Periode Transisinya .....	31
Gambar 4.1 Diagram Alur Penelitian .....	45
Gambar 5.1 Hasil Pengamatan Preparat Sitologi Apusan Vagina Tikus ( <i>Rattus Norvegicus</i> ) Strain Wistar Betina Dewasa .....	48
Gambar 5.2 Rerata Lama Siklus (3 Siklus) Sebelum dan Selama Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah .....	50
Gambar 5.3 Pengaruh Pemberian Perlakuan terhadap Perubahan Panjang Setiap Siklus .....	51





## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Definisi Operasional Penelitian .....	39
Tabel 4.2 Rincian Dosis Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah pada Kelompok Perlakuan Dalam Satu Hari .....	44
Tabel 5.1 Rerata Lama Siklus (3 Siklus) dan Selisih Lama Siklus Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah .....	49
Tabel 5.2 Rerata Perubahan Lama Setiap Siklus pada Setiap Kelompok Perlakuan .....	51

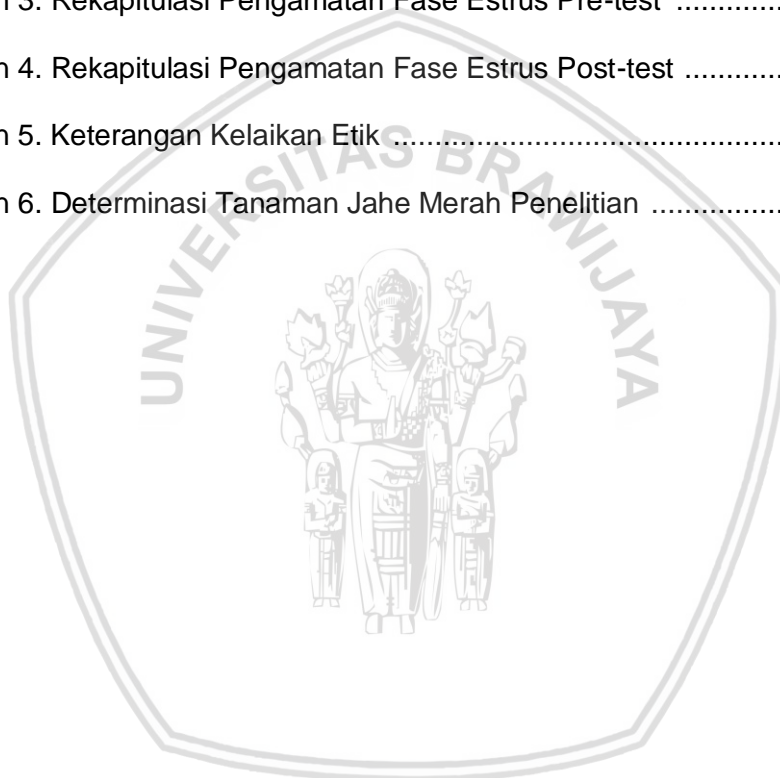


## DAFTAR SINGKATAN

BMP-15	: <i>Bone Morphogenetic Protein-15</i>
CBR	: <i>Crude Birth Rate</i>
COC	: <i>Cumulus oocyte complex</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GDF9	: <i>Growth Differentiation Factor-9</i>
GnRH	: <i>Gonadotropin Releasing Hormone</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HMB	: <i>Heavy Menstrual Bleeding</i>
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HPO	: <i>Hypothalamic Pituitary Ovary</i>
IUDs	: <i>Intrauterine Contraceptive Devices</i>
KB	: <i>Keluarga Berencana</i>
KLT	: <i>Kromatografi Lapis Tipis</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
LT	: <i>Leukotrien</i>
LTB4	: <i>Leukotrien B4</i>
LTC4	: <i>Leukotrien C4</i>
LUFs	: <i>Luteinized unruptured follicles</i>
PG	: <i>Prostaglandin</i>
PGF2- $\alpha$	: <i>Prostaglandin F2-<math>\alpha</math></i>
PGE2	: <i>Prostaglandin E2</i>
PGDH	: <i>Prostaglandin Dehydrogenase</i>
PGS-2	: <i>Prostaglandin synthetase-2</i>
PR	: <i>Progesterone Receptor</i>
PUFA	: <i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>
PUS	: <i>Pasangan Usia Subur</i>
SDGs	: <i>Sustainable Development Goals</i>
SUPAS	: <i>Survei Penduduk Antar Sensus</i>
TX	: <i>Tromboksan</i>
TXB2	: <i>Tromboksan B2</i>
TFR	: <i>Total Fertility Rate</i>

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Perhitungan Analisa Statistik .....	66
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian .....	73
Lampiran 3. Rekapitulasi Pengamatan Fase Estrus Pre-test .....	78
Lampiran 4. Rekapitulasi Pengamatan Fase Estrus Post-test .....	80
Lampiran 5. Keterangan Kelaikan Etik .....	82
Lampiran 6. Determinasi Tanaman Jahe Merah Penelitian .....	83





HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

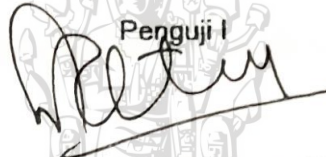
**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL RIMPANG JAHE MERAH  
(*Zingiber officinale* var. *Rubra*) TERHADAP LAMA SIKLUS ESTRUS TIKUS  
(*Rattus norvegicus*) STRAIN WISTAR BETINA DEWASA**

Oleh:

**Gheza Dearysma Kinanti Putri  
NIM 145070601111029**

Telah diuji pada  
Hari : Jumat  
Tanggal : 23 Februari 2018  
dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I



Dr. dr. Setyawati Soeharto, M.Kes  
NIP. 195210271981032001

Pembimbing I / Penguji II



Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes  
NIP. 197511252005012001

Pembimbing II / Penguji III



dr. Maya Devi Arifiandi, Sp. OG  
NIP. 2016097902032001

Mengetahui,  
Ketua Program Studi S1 Kebidanan



Linia Ratna Wati, S.ST, M.Kes  
NIP. 198409132014042001



## ABSTRAK

Putri, Gheza Dearysma Kinanti. 2018. ***Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (Zingiber Officinale var. Rubra) terhadap Lama Siklus Estrus Tikus (Rattus Norvegicus) Strain Wistar Betina Dewasa***. Tugas Akhir, Program Studi S1 Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes (2) dr. Maya Devi Arifiandi, Sp.OG.

Salah satu upaya mewujudkan keseimbangan pertumbuhan penduduk adalah dengan program Keluarga Berencana (KB), salah satunya menggunakan metode kontrasepsi. Proses maturasi dan rupturnya folikel dalam siklus reproduksi melibatkan peran prostaglandin dan enzim siklooksigenase-2 (COX-2) yang juga merupakan mediator inflamasi. Jahe merah mengandung senyawa gingerol dan shogaol yang memiliki efek antiinflamasi melalui hambatan sintesis prostaglandin dan aktivitas COX-2. Sehingga ekstrak etanol rimpang jahe merah diyakini dapat menghambat proses maturasi folikel dan mempengaruhi lama siklus estrus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) terhadap lama siklus estrus tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar betina dewasa. Penelitian ini bersifat eksperimental murni dengan rancangan *Pre-Test and Post-Test with Control Group Design*. Lama siklus estrus diketahui dengan melakukan identifikasi fase estrus dari preparat sitologi apusan vagina yang dilakukan setiap hari pukul 08.00-09.00 sebelum dan setelah perlakuan. Sampel dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yaitu kontrol; P1 (0,3 gr/kgBB); P2 (0,6 gr/kgBB); dan P3 (1,2 gr/kgBB). Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama siklus estrus antara kelompok-kelompok perlakuan tidak menghasilkan perbedaan yang bermakna ( $p>0,05$ ). Pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah mungkin hanya menghambat tahapan ovulasi yang paling akhir yaitu proses rupturnya folikel, namun tidak mempengaruhi tahapan hormonal dari siklus reproduksi sehingga tidak menyebabkan perubahan lama siklus estrus. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah tidak menyebabkan perubahan lama siklus estrus pada tikus betina dewasa.

Kata kunci : ekstrak etanol rimpang jahe merah, lama siklus estrus, sitologi apusan vagina

## ABSTRACT

Putri, Gheza Dearysma Kinanti. 2018. ***Effect of Red Ginger Roots Ethanolic Extract (Zingiber Officinale var. Rubra) to the Duration of Estrous Cycle of Adult Female Wistar Rats (Rattus Norvegicus)***. Final Assignment, Bachelor of Midwifery Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes (2) dr. Maya Devi Arifiandi, Sp.OG.

The effort to realize the balance of population growth is the family planning program or *Keluarga Berencana* (KB), by using contraceptive methods. In the reproductive cycle, the maturation process and rupture of the follicles are involved the role of prostaglandin and cyclooxygenase-2 (COX-2) enzyme which is known as the mediator of inflammation. Red ginger contains gingerols and shogaols which is known for their antiinflammation effect by suppressing the synthesis of prostaglandin and COX-2 activities. So that, the ethanolic extract of red ginger roots may suppress the maturation process of the follicles until it gives an effect to the duration of estrous cycle. This research is aimed to know the effect of red ginger roots (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) ethanolic extract to the duration of estrous cycle of adult female wistar rats (*Rattus norvegicus*). This study is pure experimental by using pre-test and post-test with control group design. The duration of estrous cycle is known by identifying the estrous phase from the preparations of vaginal cytology performed every day at 8-9 a.m before and after treatment. Samples are divided into four treatment groups including control; P1 (0.3 gr/kgBB); P2 (0.6 gr/kgBB); and P3 (1.2 gr/kgBB). This study found that there was no significant difference in the duration of estrous cycles between treatment groups ( $p>0,05$ ). Administration of red ginger roots ethanolic extract might only suppress the last stages of ovulation that was the process of follicles rupture, but it was not affect the duration of estrous cycle. From this study, it can be concluded that administration of red ginger roots ethanolic extract does not affect the duration of adult female rat's estrous cycle.

Keywords : red ginger roots ethanolic extract, duration of estrous cycle, vaginal cytology

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Berdasarkan hasil dari sensus penduduk tahun 2010, Indonesia mengalami tren pertumbuhan penduduk yang meningkat dari tahun 1990 hingga tahun 2013. Pada tahun 1990 jumlah penduduk Indonesia sebanyak 178,6 juta jiwa, sedangkan pada tahun 2013 meningkat menjadi 248,9 juta jiwa. Di luar permasalahan tingginya jumlah penduduk, Indonesia juga menghadapi persoalan tidak meratanya pertumbuhan atau persebaran penduduk (BPS, 2013). Pertumbuhan penduduk di suatu negara salah satunya disebabkan oleh tingginya angka kelahiran kasar atau *Crude Birth Rate* (CBR) dan angka kelahiran total atau *Total Fertility Rate* (TFR). Di Indonesia, angka kelahiran total atau TFR di beberapa provinsi masih terbilang cukup tinggi yaitu di atas 2,5. Di tahun 2015, Survei Penduduk Antar Sensus (SUPAS) yang dilaksanakan oleh Badan Pusat Statistik Indonesia mencatat angka TFR sebesar 2,8 (Depkes RI, 2017).

Pada tahun 2016, Perserikatan Bangsa-Bangsa (PBB) menerbitkan sebuah program “Tujuan Pembangunan Berkelanjutan” atau yang disebut *Sustainable Development Goals* (SDGs) dimana salah satu poin yang diangkat adalah terwujudnya kehidupan yang sehat bagi segala usia. Salah satu target dari *Sustainable Development Goals* adalah dengan meningkatkan pelayanan kesehatan reproduksi dan seksual termasuk perencanaan keluarga (United Nations, 2016). Target tersebut merupakan salah satu bentuk upaya

mewujudkan keseimbangan pertumbuhan penduduk dimana telah diketahui bahwa besarnya pertumbuhan penduduk dapat mempengaruhi kondisi sosial, ekonomi, pendidikan, dan bahkan kesehatan di suatu negara. Di Indonesia, pemerintah telah membentuk program Keluarga Berencana (KB). Program ini bertujuan untuk mengatur dan merencanakan kelahiran anak, mengatur jarak dan usia ideal melahirkan, serta mengatur kehamilan salah satunya dengan penggunaan alat atau metode kontrasepsi yang aman dan teratur (Kemenkes RI, 2016).

Sebagian besar pengguna KB di Indonesia memilih metode kontrasepsi hormonal pil dan injeksi (Kemenkes RI, 2016). Metode kontrasepsi oral hormonal memiliki beberapa manfaat bagi kesehatan wanita diantaranya mengurangi risiko kanker ovarium, mencegah endometriosis, mengurangi anemia defisiensi besi dengan mengurangi terjadinya menorrhagia, mengurangi kejadian nyeri haid atau dismenore, dan memperbaiki keteraturan siklus menstruasi (Ricci, 2013). Kontrasepsi oral hormonal bekerja dengan cara menghambat proses ovulasi melalui mekanisme penghambatan terhadap *hypothalamic gonadotropin-releasing factors*, yang mencegah sekresi *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) oleh pituitari anterior. Kedua hormon tersebut merupakan hormon yang memiliki peranan penting dalam proses ovulasi. Kontrasepsi oral juga mempengaruhi endometrium sehingga dapat mencegah implantasi dari ovum yang telah difertilisasi (Hoffman *et al.*, 2012).

Lonjakan *Luteinizing Hormone* (LH) di dalam proses ovulasi memicu sekresi prostaglandin yang pesat sesaat sebelum ovulasi. Ketika ovulasi, dinding folikel mengalami ruptur karena rangsangan  $PGF2-\alpha$ . Jadi dapat dikatakan ovulasi tidak akan terjadi tanpa kenaikan kadar prostaglandin (Syarif *et al.*, 2016).



Selain itu, ekspresi dari siklooksigenase-2 (COX-2) dan produksi dari PGE2 oleh sel-sel kumulus menginduksi ekspansi kumulus dalam proses ruptur folikel (Cunningham *et al.*, 2009). COX-2 dan prostaglandin adalah mediator utama proses inflamasi dalam tubuh dan juga esensial untuk fungsi fisiologis reproduksi wanita. COX-2 juga dikenal sebagai enzim yang esensial untuk inflamasi melalui metabolisme zat-zat metabolit *arachidonic acid*. COX-2 merubah *arachidonic acid* yang didapat dari membran sel menjadi prostaglandin. Zat-zat anti-inflamasi diketahui dapat mempengaruhi ovulasi yang dipercayai sebagai proses yang sama dengan inflamasi (Akpantah *et al.*, 2005; Londonkar *et al.*, 2013 dan Ricci, 2013).

Jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) merupakan salah satu jenis tanaman rimpang yang tumbuh di daerah tropis maupun subtropis seperti Indonesia. Jahe umumnya dimanfaatkan sebagai bumbu untuk meningkatkan cita rasa masakan. Tidak hanya itu, jahe telah lama dimanfaatkan sebagai tanaman obat yang fungsinya beragam seperti anti-inflamasi dalam mengobati luka bakar, antioksidan dan antiemetik dalam meredakan mual muntah pada ibu hamil (Kashefi *et al.*, 2014).

Jahe memiliki kandungan senyawa shogaol dan gingerol yang diketahui dapat menimbulkan efek anti-inflamasi dengan menekan sintesis dari prostaglandin dan enzim *cyclooxygenase-2* (COX-2) (Vuori-Holopainen *et al.*, 2013 dan Breemen *et al.*, 2011). Jika kadar prostaglandin tidak meningkat seiring terjadinya lonjakan LH, maka ovum akan tetap berada di dalam folikel de graaf (Ricci, 2013). Zat anti-inflamasi yang ada dalam jahe merah bekerja dengan menekan pengeluaran prostaglandin yang berlebihan sehingga jahe merah dapat menjadi menjadi sebuah alternatif herbal dalam menekan ovulasi dan



memberikan efek kontraseptif. Berdasarkan latar belakang tersebut, ingin diteliti lebih lanjut apakah ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) dapat menyebabkan gangguan ovulasi dan berakibat pada perubahan lama siklus estrus pada tikus.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) terhadap lama siklus estrus tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar betina dewasa?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) terhadap lama siklus estrus tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar betina dewasa.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui lama siklus estrus tikus strain wistar betina dewasa normal.
2. Mengetahui lama siklus estrus tikus strain wistar betina dewasa yang diberikan ekstrak etanol rimpang jahe merah.
3. Mengetahui hubungan dosis pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) dengan lama siklus estrus tikus strain wistar betina dewasa.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Akademis**

1. Menambah pengetahuan baru dalam ilmu kebidanan dan kesehatan tentang pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap lama siklus estrus tikus wistar betina dewasa.
2. Mengembangkan kemampuan mahasiswa kebidanan dalam melakukan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap lama siklus estrus tikus wistar betina dewasa.

### **1.4.2 Manfaat Praktis**

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap lama siklus estrus tikus wistar betina dewasa.
2. Memberikan informasi kepada praktisi kesehatan tentang pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap lama siklus estrus tikus wistar betina dewasa.
3. Menambah informasi kepada praktisi kesehatan sehingga dapat mengembangkan penelitian selanjutnya mengenai efek kontraseptif dari ekstrak etanol rimpang jahe merah.
4. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat tanaman jahe merah sehingga dapat dikembangkan dalam usaha pemberdayaan masyarakat terkait tanaman jahe merah.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kontrasepsi dan Keluarga Berencana

##### 2.1.1 Definisi dan Tujuan

Kontrasepsi adalah upaya untuk mencegah terjadinya kehamilan. Upaya itu dapat bersifat sementara dapat pula bersifat permanen. Metode kontrasepsi bekerja dengan cara mencegah sperma mencapai sel telur atau mencegah telur yang telah dibuahi untuk melekat dan berkembang dalam endometrium (Sulistyawati, 2011). Sumber lain mengatakan bahwa kontrasepsi adalah pencegahan kehamilan yang disengaja selama melakukan hubungan seksual. Pengaturan kehamilan (*birth control*) adalah alat dan/atau metode yang digunakan untuk mengurangi risiko kehamilan atau persalinan serta menambah keturunan (Lowdermilk dan Perry, 2006).

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia nomor 97 tahun 2014 menjelaskan bahwa penyelenggaraan pelayanan kontrasepsi bertujuan untuk menjamin kesehatan ibu sehingga mampu melahirkan generasi yang sehat dan berkualitas, mengurangi angka kesakitan dan angka kematian ibu dan bayi baru lahir, menjamin tercapainya kualitas hidup dan pemenuhan hak-hak reproduksi, serta mempertahankan dan meningkatkan kualitas pelayanan kesehatan ibu dan bayi baru lahir. Pelayanan kontrasepsi adalah pemberian atau pemasangan kontrasepsi maupun tindakan-tindakan lain yang berkaitan dengan kontrasepsi kepada calon dan peserta Keluarga Berencana (KB) yang dilakukan dalam fasilitas pelayanan KB (Kemenkes RI, 2014).

*Family planning* atau perencanaan keluarga adalah keputusan yang dibuat secara sadar tentang waktu untuk hamil, atau menghindari kehamilan yang dilakukan selama usia reproduktif (Lowdermilk dan Perry, 2006). Menurut Permenkes RI, Keluarga Berencana adalah upaya mengatur kelahiran anak, jarak dan usia ideal melahirkan, mengatur kehamilan, melalui promosi, perlindungan, dan bantuan sesuai dengan hak reproduksi untuk mewujudkan keluarga yang berkualitas. Pengaturan kehamilan adalah upaya untuk membantu pasangan usia subur melahirkan pada usia yang ideal, memiliki jumlah anak, dan mengatur jarak kelahiran anak yang ideal dengan menggunakan cara, alat, dan obat kontrasepsi (Kemenkes RI, 2014).

Bidan memiliki peran penting dalam hal perencanaan keluarga. Salah satu peran bidan adalah dengan memfasilitasi klien dalam mendapatkan pemahaman, pilihan, dan informasi terkini terhadap wanita dan pasangannya mengenai hal perencanaan keluarga. Saat masa prakonsepsi, pasangan usia subur diberikan informasi mengenai kontrasepsi dua bulan setelah pemberian vaksinasi. Saat masa antenatal, pasangan diberikan informasi mengenai pilihan-pilihan yang tepat untuk masa depan pasangan termasuk perencanaan kehamilan berikutnya (Jacob, 2012).

### **2.1.2 Cakupan Penggunaan Kontrasepsi**

Terdapat sekitar 68 juta wanita usia subur di Amerika Serikat usia 15 sampai 44 tahun menggunakan metode kontrasepsi yang bervariasi. Penelitian telah melaporkan bahwa 98% wanita aktif seksual di Amerika Serikat mengatakan telah memakai kontrasepsi setidaknya satu jenis. Namun, disamping penggunaan kontrasepsi yang meningkat, hampir setengah kehamilan

di Amerika Serikat adalah kehamilan yang tidak diinginkan atau tidak disengaja (Daniels *et al.*, 2013). Selain kehamilan yang tidak disengaja yang dapat dapat mengakibatkan aborsi, beberapa kontrasepsi juga dapat membantu mencegah penularan infeksi menular seksual dan HIV. Laporan dari *United Nations Population Fund* pada tahun 2011 menunjukkan bahwa 15 orang di Amerika Serikat terinfeksi HIV setiap menitnya. Hal tersebut tentu dapat dicegah dengan penggunaan kontrasepsi yang aman dan konsisten untuk semua orang yang menginginkan, serta edukasi kepada masyarakat tentang keuntungan dan penggunaan kontrasepsi yang baik (UNFPA, 2011).

Sasaran pelaksanaan program KB adalah Pasangan Usia Subur (PUS), yaitu pasangan suami istri yang terikat dalam perkawinan yang sah. Peserta KB aktif adalah pasangan usia subur yang saat ini menggunakan salah satu alat kontrasepsi tanpa diselingi kehamilan, sedangkan peserta KB baru adalah pasangan usia subur yang baru pertama kali menggunakan alat/cara kontrasepsi dan atau pasangan usia subur yang kembali menggunakan metode kontrasepsi setelah melahirkan/keguguran. Peserta KB baru dan KB aktif di Indonesia pada tahun 2015 menunjukkan pola yang sama dalam pemilihan jenis alat kontrasepsi. Sebagian besar peserta KB baru dan KB aktif memilih suntikan dan pil sebagai alat kontrasepsi (Kemenkes RI, 2016).

Prosentase peserta KB baru di Indonesia tahun 2015 menunjukkan penurunan dibandingkan capaian tahun 2014 yaitu dari 16,51% menjadi 13,46% di tahun 2015. Keberadaan fasilitas pelayanan KB di Indonesia sebagian besar berasal dari praktik bidan mandiri dengan proporsi 52,86%. Namun, sebagian besar peserta KB lebih memilih fasilitas milik pemerintah dalam mendapatkan layanan KB. Total angka *unmet need* tahun 2015 mengalami penurunan



dibandingkan tahun 2014 yaitu sebesar 14,87%. Dengan menurunnya angka *unmet need* maka dapat mengindikasikan keberhasilan penyelenggaraan program KB di Indonesia (Kemenkes RI, 2016).

### 2.1.3 Jenis-Jenis Kontrasepsi Secara Umum

Kontrasepsi memiliki berbagai jenis yang digolongkan menjadi metode kontrasepsi sementara (*temporary methods*) dan metode kontrasepsi permanen (*permanent methods*). Metode kontrasepsi sementara terbagi menjadi dua jenis yaitu metode barier atau perlindungan, kontrasepsi alami, *Intrauterine Contraceptive Devices* (IUDs), dan kontrasepsi hormonal/steroid. Sedangkan metode kontrasepsi permanen diterapkan pada pria dan wanita yang terdiri atas ligasi atau oklusi tuba pada wanita dan vasektomi yang dilakukan pada pria (Jacob, 2012).

Metode kontrasepsi alami merupakan pengaturan kehamilan secara alamiah tanpa menggunakan alat apapun. Kontrasepsi alami terdiri dari metode kalender, metode suhu basal, metode lendir serviks, metode simptomermal, dan koitus interruptus. Metode kontrasepsi barier merupakan kontrasepsi menggunakan alat yaitu kondom pria dan kondom wanita dimana alat tersebut berfungsi menghalangi spermatozoa agar tidak masuk ke dalam traktus genitalis internal wanita. IUDs merupakan alat kontrasepsi yang dimasukkan ke dalam rongga uterus. IUDs bekerja dengan merangsang timbulnya reaksi radang lokal non spesifik dalam rahim sehingga implantasi sel telur yang dibuahi terganggu (Yuhedi dan Kurniawati, 2011).

Metode kontrasepsi hormonal/steroid merupakan kontrasepsi yang mengandung hormon estrogen atau progesteron saja atau kombinasi keduanya.

Metode ini terdiri dari berbagai jenis yaitu kontrasepsi hormonal suntik, oral atau pil, *patch* atau koyo, dan implant atau subkutan. Mekanisme kerja kontrasepsi hormonal adalah dengan mempengaruhi ovulasi, implantasi, transportasi gamet, fungsi korpus luteum, dan lendir serviks. Penggunaan kontrasepsi hormonal harus memperhatikan indikasi dan kontraindikasinya. Pemberian hormon sintesis ke dalam tubuh juga memiliki efek samping yang perlu diperhatikan bagi penerima sebelum memutuskan memilih metode kontrasepsi ini (Yuhedi dan Kurniawati, 2011).

## 2.2 Kontrasepsi Oral

### 2.2.1 Definisi dan Jenis Kontrasepsi

Kontrasepsi oral adalah agen hormonal yang terdiri atas kombinasi estrogen dan progestin atau hanya progestin. Kontrasepsi ini memiliki beberapa macam sediaan. Sediaan estrogen biasanya menggunakan *ethinyl oestradiol* dan mestranol. Sedangkan sediaan progesteron sebagian besar terdiri dari seri 19-*nortestosterone* dan jenis lainnya terdiri dari 17-*hydroxy-progesterone*. Tiga jenis utama kontrasepsi oral yang sering digunakan adalah kontrasepsi oral kombinasi, kontrasepsi sekuens, dan kontrasepsi oral berkelanjutan (Basavanthappa, 2006). Sumber lain menjelaskan bahwa kontrasepsi oral diklasifikasikan menjadi kontrasepsi oral trifasik, kontrasepsi oral kombinasi, dan pil hanya progestrin atau minipil (Afiyanti *et al.*, 2003).

Kontrasepsi oral kombinasi merupakan kombinasi dari estrogen dan progesteron sintesis dalam kadar yang berbeda-beda tergantung pada merknya. Pil oral kombinasi terdiri dari monofasik, bifasik, atau trifasik. Pil monofasik terdiri dari pil aktif dengan dosis estrogen dan progesteron yang sama dalam satu

kemasan (Pairman, 2010). Pil bifasik dan trifasik dibuat dengan tujuan meniru pola hormonal siklus menstruasi. Pada jenis pil ini, dosis lebih rendah di awal siklus dan bertambah tinggi pada beberapa hari berikutnya. Hal ini bertujuan untuk mencegah *spotting* dan perdarahan menyerupai menstruasi (Yuhedi dan Kurniawati, 2011).

### 2.2.2 Mekanisme Aksi

Kontrasepsi oral kombinasi bekerja dengan menghambat ovulasi melalui supresi faktor-faktor pengeluaran gonadotropin oleh hipotalamus, yang kemudian mencegah pituitari anterior untuk mensekresikan FSH dan LH. Supresi terhadap aksis hipotalamus pituitari tersebut menyebabkan folikel-folikel praovulasi tidak matur dan menghambat ovulasi (Lowdermilk dan Perry, 2006). Hormon estrogen menekan pengeluaran FSH dan menstabilkan kondisi endometrium untuk mencegah perdarahan spontan. Progestin mencegah ovulasi dengan menekan LH, menebalkan sekresi mukus serviks untuk menghalangi jalan sperma, dan mempengaruhi endometrium agar tidak dapat menjadi tempat implantasi (Hoffman *et al.*, 2012).

Pil hanya progestin atau minipil mengandung salah satu jenis progestogen yaitu *levonogestrel*, *norethisterone*, dan *ethynodiol*. tidak secara langsung menghambat proses ovulasi, namun pil ini lebih efektif dalam mempengaruhi sekresi mukus serviks sehingga menghalangi jalan sperma masuk ke saluran genitalia internal wanita. Selain itu, minipil juga menurunkan reseptivitas endometrium (Pairman *et al.*, 2010). Pengaruh pil kontrasepsi terhadap perubahan endometrium adalah dengan membuat ketidaksesuaian pada perkembangan jaringan stroma dan glandular endometrium sehingga

lingkungan endometrium menjadi tidak layak untuk dijadikan tempat implantasi bagi ovum yang telah difertilisasi (Basavanthappa, 2006).

### 2.3 Kontrasepsi Herbal

*World Health Organization* telah membuat sebuah proyek terhadap penelitian herbal untuk regulasi fertilitas dengan tujuan menemukan senyawa kontrasepsi oral aktif non-steroid. Berbagai jenis spesies tanaman dengan sifat antifertilitasnya telah ditemukan di China dan India sejak lama. Namun penelitian tentang sediaan tanaman yang aman dan efektif masih dibutuhkan untuk mengatur fertilitas. Kontrasepsi herbal mungkin tidak seefektif kontrasepsi oral pil hormonal, namun bisa menjadi pilihan bagi wanita yang memiliki kontraindikasi terhadap kontrasepsi oral hormonal (Rajandeeep *et al.*, 2011).

Kontrasepsi herbal merupakan kategori tanaman yang memiliki sifat antifertilitas. Terdapat berbagai mekanisme bagi zat dalam tanaman yang dapat mengganggu fertilitas. Beberapa bekerja dengan mempengaruhi ovarium maupun uterus, hingga mempengaruhi produksi hormon. Beberapa jenis lainnya memiliki kemampuan untuk mengganggu proses implantasi, serta mengganggu produksi dan mobilitas normal sel sperma (Rajandeeep *et al.*, 2011).

### 2.4 Siklus Reproduksi

#### 2.4.1 Siklus Reproduksi Tahap Aksis HPO

Ovulasi merupakan hasil dari proses maturasi yang terjadi dalam aksis hipotalamik-pituitari-ovarium (*HPO axis*). Jadi dapat dikatakan bahwa ovulasi bergantung pada kehadiran fungsi aksis HPO. Ketika distimulasi, hipotalamus akan mengeluarkan hormon gonadotropin (GnRH) kepada pituitari. Kemudian

GnRH menstimulasi reseptor-reseptor yang ada pada pituitari anterior untuk memproduksi dan mensekresikan *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). Pada wanita, FSH menginduksi maturasi dari folikel ovarium dan produksi hormon estrogen, sedangkan LH memodulasi sekresi androgen dari sel-sel teka ovarium. Selama proses pertumbuhan folikel, kadar estrogen mencapai konsentrasi yang menyebabkan umpan balik positif terhadap sekresi LH. Proses tersebut disebut dengan lonjakan LH atau *LH surge*. 16-24 jam setelah lonjakan LH, ovulasi terjadi dengan adanya proses ekstrusi oosit matur dari folikel de graaf dan pembentukan korpus luteum (Hernandez-Rey, 2015).

Perkembangan siklus menstruasi ovulatorik yang spontan, siklik, teratur, dan dapat diprediksi, diatur oleh interaksi kompleks antara aksis hipotalamus-hipofisis, ovarium, dan traktus genitalis. Saat lahir, terdapat 2 juta oosit dalam ovarium manusia dan sekitar 400.000 folikel saat awitan pubertas. Namun hanya 400 folikel yang akan dilepaskan selama masa reproduksi seorang wanita. Oleh karena itu dapat dikatakan lebih dari 99,9% folikel mengalami atresia melalui proses apoptosis. Perkembangan folikular terdiri atas beberapa fase yang dikendalikan oleh dua faktor yaitu *Growth Differentiation Factor-9* (GDF9) dan *Bone Morphogenetic Protein-15* (BMP-15). Kedua faktor tersebut mengatur proliferasi dan diferensiasi sel-sel granulosa seiring berkembangnya folikel primer (Cunningham *et al.*, 2009). Proses yang terjadi selama ovulasi merupakan proses yang sensitif sehingga gangguan dari luar dapat mempengaruhi faktor-faktor pendukung proses ovulasi dan dapat memicu terjadinya kegagalan ovulasi atau anovulasi (Hernandez-Rey, 2015).

#### 2.4.2 Peran Prostaglandin dan Siklooksigenase

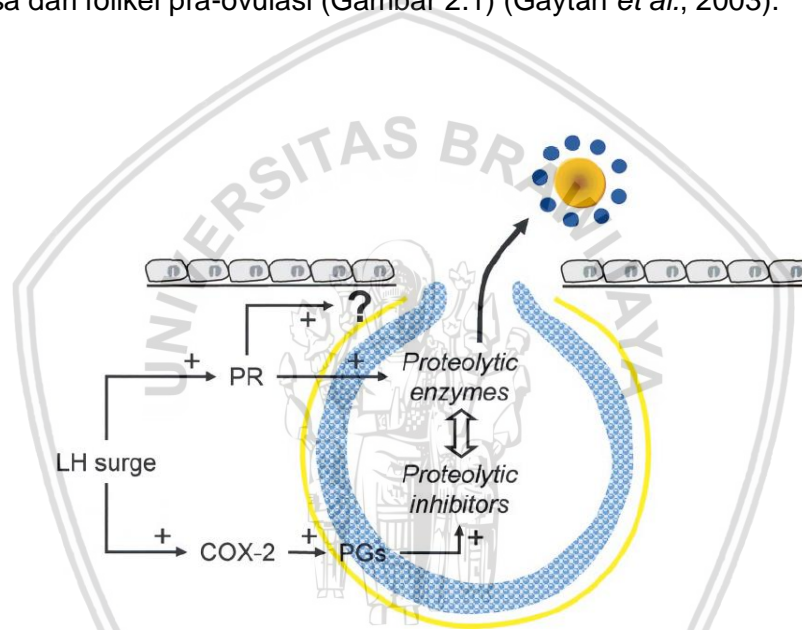
Prostaglandin (PG) adalah mediator utama dari proses inflamasi dalam tubuh dan juga esensial untuk fungsi fisiologis sistem reproduksi wanita. Prostaglandin merupakan asam lemak teroksidasi yang diklasifikasikan sebagai hormon. Prostaglandin diproduksi oleh sebagian besar organ-organ dalam tubuh namun yang paling diketahui adalah di endometrium. Hormon ini berpengaruh terhadap modulasi aktivitas hormonal. Prostaglandin memiliki peran dalam proses ovulasi. Jika kadar prostaglandin tidak meningkat seiring dengan terjadinya lonjakan LH, maka ovum akan tetap berada di dalam folikel de graaf (Basavanthappa, 2006 & Ricci, 2013).

Saat ovulasi, terjadi lonjakan gonadotropin akibat sekresi estrogen oleh folikel praovulasi. Normalnya, sekresi LH mencapai puncaknya pada 10 hingga 12 jam sebelum ovulasi hingga memicu meiosis dalam ovum. Penelitian terkini menunjukkan bahwa sebagai respons terhadap lonjakan LH, terjadi peningkatan produksi progesteron dan prostaglandin oleh sel kumulus, serta produksi GDF9 dan BMP-15 oleh oosit, yang mengaktifkan ekspresi gen-gen penting untuk pembentukan matriks ekstraselular yang kaya hialuronat oleh *cumulus oocyte complex* atau COC (Cunningham *et al.*, 2009).

Secara fisiologis, LH, FSH, dan prostaglandin ada di dalam tubuh dan keberadaannya sangat penting dalam mengatur berlangsungnya steroidogenesis dan folikulogenesis. Lonjakan LH yang terjadi sesaat sebelum ovulasi memicu sekresi prostaglandin yang pesat sehingga terjadilah ovulasi. Ketika ovulasi, dinding folikel mengalami ruptur karena rangsangan PGF<sub>2</sub>- $\alpha$ . Sehingga dapat dikatakan ovulasi tidak akan terjadi tanpa kenaikan kadar prostaglandin (Syarif *et al.*, 2016).



Lonjakan LH yang terjadi sebelum ovulasi menginduksi ekspresi dari berbagai gen. Dua gen terinduksi LH yang esensial adalah *progesterone receptor* (PR) dan *prostaglandin synthase-2* (PGS-2) atau *cyclooxygenase-2* (COX-2) dan beberapa penelitian mengindikasikan bahwa progesteron dan prostaglandin dibutuhkan untuk keberhasilan ovulasi. Lonjakan LH menstimulasi sekresi dari progesteron dan menginduksi ekspresi transien dari PR pada sel-sel granulosa dari folikel pra-ovulasi (Gambar 2.1) (Gaytán *et al.*, 2003).



**Gambar 2.1 Ilustrasi Peran Progesteron dan Prostaglandin terhadap Peningkatan Aktivitas Proteolitik Selama Proses Ovulasi (Gaytán *et al.*, 2003)**

Keterangan: Lonjakan LH menginduksi ekspresi reseptor progesteron transien dan COX-2 pada folikel pra-ovulatorik.

*Cyclooxygenase-2* adalah enzim yang penting dalam proses ovulasi. Ini merupakan enzim yang esensial untuk proses ruptur folikel melalui zat-zat metabolit asam arachidonic, yang memegang peranan penting dalam ruptur folikel dengan mengaktifasi protease, neovaskularisasi, migrasi leukosit, dan kontraksi otot polos (Akpantah *et al.*, 2005). *Cyclooxygenase* yang merubah *arachidonic acid* yang didapat dari membran sel menjadi prostaglandin.

*Cyclooxygenase-1* (COX-1) merupakan bentuk endogen dari enzim yang dibutuhkan untuk memproduksi prostaglandin. Sementara itu, COX-2 dipercaya menjadi enzim yang berhubungan dengan inflamasi. Penelitian pada tikus dengan defisiensi COX-2 terbukti mengalami kelainan fungsi reproduktif seperti ovulasi dan fertilisasi (Londonkar *et al.*, 2013).

Beberapa penelitian menemukan bahwa ekspresi dari *cyclooxygenase-2* dan produksi dari PGE<sub>2</sub> oleh sel-sel kumulus menginduksi ekspansi kumulus secara *in vitro*. PGE<sub>2</sub> juga berperan dalam mitogenesis selular dan ketahanan, sebuah proses yang esensial untuk pertumbuhan folikel dan maturasi. Pelucutan progesteron meningkatkan ekspresi enzim *cyclooxygenase-2* yang dapat terinduksi untuk menyintesis prostaglandin dan menurunkan ekspresi 15-hidroksiprostaglandin dehidrogenase (PGDH) yang mendegradasi prostaglandin (Cunningham *et al.*, 2009).

#### **2.4.3 Peran Inflamasi dalam Siklus Reproduksi**

Saat menstruasi terjadi peningkatan kadar prostaglandin dalam darah menstruasi. Di sisi lain, penurunan progesteron yang terjadi menimbulkan peningkatan produksi *arachidonic acid* oleh membran fosfolipid. Peningkatan *arachidonic acid* membentuk PGF<sub>2</sub> dan tromboksan yang dapat memicu vasokonstriksi arteri spiralis. Semakin menurunnya kadar progesteron, semakin meningkat produksi PGF<sub>2</sub>, prostasiklin, dan tromboksan sehingga menimbulkan iskemia pada endometrium (Manuaba, 2007).

Selain itu, diketahui terdapat peran eikosanoid yang merupakan gugus senyawa mirip hormon. Eikosanoid disintesis dari asam lemak *polyunsaturated*-*Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) yang mengandung 20 atom karbon (asam

eikosanoat) dengan 3, 4, atau 5 ikatan rangkap. Contoh eikosanoid adalah prostaglandin (PG), leukotrien (LT), dan tromboksan (TX) (Marks *et al.*, 2000). Saat fase folikular terjadi proses pematangan folikel, pemilihan salah satu folikel, maturasi dari oosit, dan ruptur dari folikel de Graaf untuk melepaskan oosit ke tuba fallopii. Banyak perhatian dari siklus ini yang terfokus pada peran eikosanoid dalam ovulasi, regresi korpus luteum, dan steroidogenesis (Marks & Fürstenberger, 1999).

Cairan folikel pada manusia mengandung prostaglandin  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), 6-keto- $PGF_{1\alpha}$ ,  $PGE_2$ , tromboksan  $B_2$  ( $TXB_2$ ), leukotrien  $B_4$  ( $LTB_4$ ), dan leukotrien  $C_4$  ( $LTC_4$ ). Konsentrasi  $PGF_{2\alpha}$  meningkat selama fase *pre-ovulatory* (fase folikuler). Penelitian menggunakan hewan menunjukkan bahwa pada fase *pre-ovulatory* terjadi peningkatan produksi prostaglandin dari folikel pada ovarium yang memiliki peran sangat penting dalam ovulasi. Gonadotropin dapat dengan cepat menginduksi produksi prostaglandin secara *in-vitro*. Oleh karena itu, kenaikan LH pada saat fase folikuler mungkin bertanggung jawab atas stimulasi produksi prostaglandin ovarium. Berbeda dengan sistem yang lain, kenaikan prostaglandin ini tidak disebabkan oleh peningkatan ketersediaan asam arakidonat dari membran fosfolipid, namun dengan meningkatnya aktifitas siklooksigenase (COX) (Marks & Fürstenberger, 1999).

## 2.5 Jahe Merah

### 2.5.1 Definisi dan Karakteristik

Jahe merah atau yang memiliki nama latin *Zingiber officinale* var. *Rubra* adalah salah satu jenis dari spesies *Zingiber officinale* yang ditanam di Indonesia dan Malaysia. Jahe merah ini memiliki ciri-ciri berwarna kemerahan dan violet

(Oryza, 2011). Berdasarkan ukuran, bentuk, dan warna rimpangnya, jahe dibedakan menjadi tiga jenis yaitu jahe putih besar (jahe gajah), jahe putih kecil (jahe emprit atau jahe sunti), dan jahe merah. Jahe merah hidup di dataran rendah hingga ketinggian 1.500 meter di atas permukaan laut dan tumbuh di daerah tropis maupun subtropis. Batangnya berbentuk bulat kecil, berwarna kemerahan dan agak keras diselubungi pelepah daun. Tinggi tanaman ini 30-60 cm. Aroma jahe merah sangat tajam dan rasanya sangat pedas (Bermawie *et al.* 2011 dan Lestari, 2006). *National Plant Database* (2004) menjelaskan klasifikasi ilmiah dari jahe merah sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Subkelas	: Zingiberidae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber P. Mill
Spesies	: <i>Zingiber officinale</i> Roscoe (NTBG, 2017).



**Gambar 2.2 Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) (Oryza, 2011)**

Keterangan: Gambar A menunjukkan jahe merah yang belum dikupas, gambar B menunjukkan jahe merah yang sudah dikupas sebagian kulitnya.

Jahe (*Zingiber officinale*) mempunyai kegunaan yang cukup beragam. Biasanya jahe merah ini digunakan sebagai bumbu, sirup, dan sebagai obat untuk menyembuhkan beberapa penyakit seperti reumatik, osteoporosis, asma, dan batuk (Oryza, 2011). Secara tradisional, kegunaannya antara lain untuk mengobati penyakit reumatik, asma, stroke, sakit gigi, diabetes, sakit otot, tenggorokan, kram, hipertensi, mual, demam dan infeksi. Secara umum, ketiga jahe ini mengandung pati, minyak atsiri, serta, sejumlah kecil protein, vitamin, mineral, dan enzim proteolitik yang disebut zingibain (Hernani *et al.*, 2015).

### 2.5.2 Kandungan Kimia

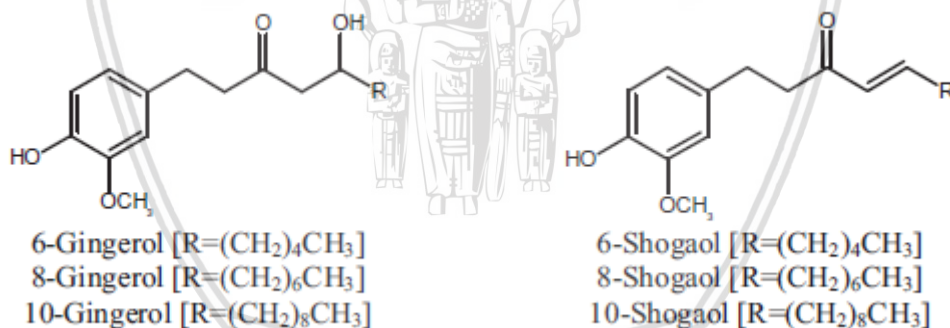
Rimpang jahe mengandung beberapa komponen kimia antara lain air, pati, minyak atsiri, oleoresin, serat kasar, dan abu. Jumlah masing-masing komponen tersebut berbeda-beda tergantung pada kondisi lingkungan tempat jahe tersebut tumbuh dan berkembang. Kandungan minyak atsiri jahe sekitar 2,58-2,72% berdasarkan berat keringnya. Rasa pedas pada jahe merah sangat tinggi karena kandungan oleoresin yang tinggi (Bermawie *et al.*, 2011).

Jahe memiliki beberapa senyawa bioaktif yaitu gingerol, zingiberen, dan shogaol. Selain kandungan oleoresin yang tinggi, rasa yang pedas pada jahe berasal dari senyawa-senyawa gingerol yang dikandungnya. Gingerol khususnya [6]-gingerol adalah senyawa yang sebagian besar terdapat dalam jahe dibanding jenis gingerol lainnya. Gingerol merupakan kelompok senyawa fenolik yang mudah menguap. Menurut beberapa penelitian, senyawa gingerol bersifat labil terhadap suhu panas yang kemudian bertransformasi menjadi senyawa shogaol. Pada beberapa penyelidikan, ditemukan bahwa [6]-shogaol memiliki aktivitas biologis yang lebih baik dibandingkan [6]-gingerol. Konsentrasi dari senyawa-



senyawa gingerol menurun ketika jahe segar dipanggang atau dikeringkan. Namun, konsentrasi dari [6]-shogaol meningkat bersamaan dengan proses yang sama (Semwal *et al.*, 2015).

Penelitian lain menemukan bahwa senyawa oleoresin dan derivatnya seperti gingerdiol, *acetoxy gingerdiol*, dan *diacetoxy gingerdiol* ditemukan dalam jahe. Jahe merah memiliki kandungan senyawa tertinggi berupa senyawa-senyawa asetil, tetapi rendah kandungan senyawa [6]-gingerdiol diasetat. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam jahe tidak hanya dari [6]-gingerol dan [6]-shogaol saja, namun beberapa derivatnya juga menunjukkan aktivitas biologis seperti oleoresin rantai panjang, [6]-azashogaol, dan [6]-paradol (Tanaka *et al.*, 2015).



**Gambar 2.3 Struktur Kimia dari Beberapa Jenis Senyawa Gingerol dan Shogaol yang Diisolasi dari Rimpang Jahe (Semwal *et al.*, 2015)**

Jahe merah memiliki pengaruh yang supresif terhadap inflamasi akut dan kronis dengan menghambat aktivasi dari makrofag (Shimoda *et al.*, 2010). Sebuah studi menyatakan bahwa [6]-shogaol menunjukkan sifat anti-oksidan dan anti-inflamasi yang paling potensial dibandingkan [6]-gingerol. Namun diantara berbagai derivat gingerol, [10]-gingerol adalah yang paling potensial (Dugasani *et*

*al.*, 2010). Penemuan lain menyatakan bahwa jahe dapat menjadi penghambat yang potensial terhadap produksi mediator pro-inflamasi (Han *et al.*, 2013).

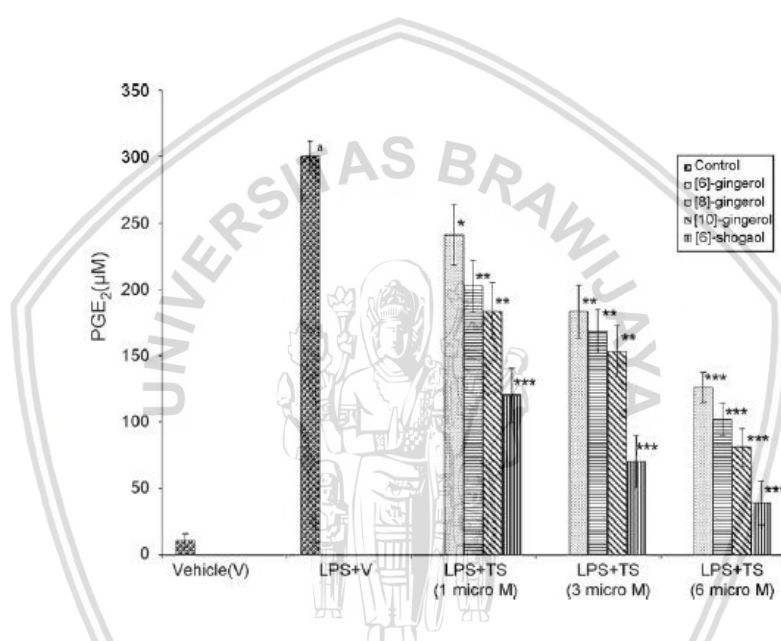
Penelitian Lestari (2002) yang menguji efek ekstrak jahe untuk uji inflamasi menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jahe dengan dosis 0,9 gram/kgBB; 1,8 gram/kgBB; dan 3,6 gram/kgBB secara oral menggunakan sonde lambung pada tikus yang diinduksi edema memiliki efek sebagai antiinflamasi. Terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol yang menunjukkan penurunan nilai ambang nyeri pada tikus yang diberikan perlakuan. Ekstrak jahe memberikan efek anti-inflamasi setelah dilakukan pengukuran pada menit ke-30 pasca pemberian ekstrak yang disebut sebagai onset kerja obat pada penelitian tersebut. Sedangkan pengukuran pada menit ke-60 pasca pemberian ekstrak menunjukkan efek anti-inflamasi yang optimal (Lestari, 2002).

### **2.5.3 Pengaruh Jahe terhadap Prostaglandin dan Siklooksigenase**

Jahe diketahui dapat menjadi alternatif pengobatan yang efektif dalam mengurangi *heavy menstrual bleeding* (HMB) dan meningkatkan kualitas hidup wanita muda. Pemberian dosis jahe sebesar 250 mg selama tiga bulan kepada subjek dengan HMB terbukti dapat mengurangi jumlah perdarahan tiap menstruasi. Jahe dapat menghambat kadar dari Prostaglandin E<sub>2</sub> dan Prostasiklin yang tinggi pada wanita dengan HMB (Kashefi *et al.*, 2014). Penelitian yang membandingkan efek senyawa gingerol dan shogaol terhadap produksi PGE<sub>2</sub> menunjukkan bahwa terjadi efek penghambatan bermakna terhadap kadar PGE<sub>2</sub> jika dibandingkan dengan kontrol. Penelitian ini menguji efek pemberian senyawa murni gingerol dan 6-shogaol dengan dosis 1 micro M,



3 micro M, dan 6 micro M, pada kultur sel makrofag yang diinduksi lipopolisakarida. Senyawa yang paling potensial dalam menghambat produksi PGE<sub>2</sub> adalah 6-shogaol, disusul oleh 10-gingerol, 8-gingerol, dan 6-gingerol sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2.4. Peningkatan dosis juga menunjukkan efek penghambatan kadar sintesis prostaglandin yang signifikan (Dugasani *et al.*, 2010).

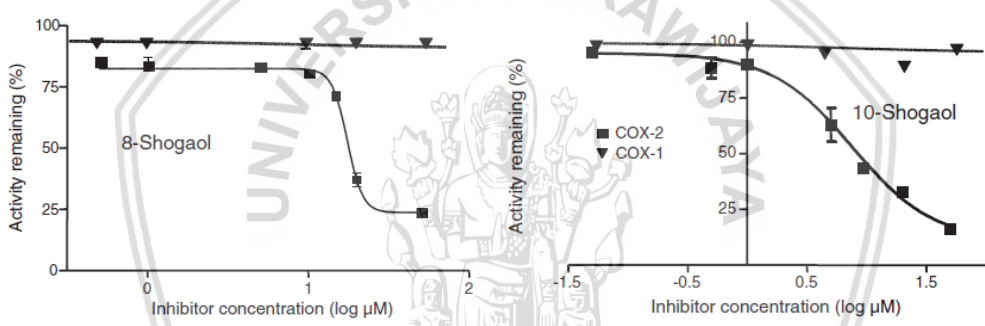


**Gambar 2.4** Inhibisi terhadap PGE<sub>2</sub> oleh Senyawa-Senyawa Gingerol dan 6-shogaol (Dugasani *et al.*, 2010)

Keterangan: Efek pemberian beberapa jenis senyawa murni gingerol dan 6-shogaol sebagai *tested-sample* (TS) dalam berbagai dosis terhadap kadar sintesis hormon prostaglandin pada kultur sel makrofag yang diinduksi lipopolisakarida (LPS). Pemberian *tested-sample* dalam berbagai dosis tersebut dibandingkan dengan kontrol (LPS+V).

Senyawa shogaol merupakan penghambat sintesis COX-2 yang paling potensial setelah gingerol. Senyawa ini berikatan dengan sisi aktif dan ligan dari COX-2. Derivat shogaol yang paling potensial menghambat kadar COX-2 adalah 8-shogaol dan 10-shogaol sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2.5 (Breemen *et al.*, 2011). Selain senyawa shogaol, zat derivat flavonoid yang terkandung di dalam jahe diketahui dapat menghambat aktivitas siklooksigenase dan secara

konsekuen terhadap ovulasi. Kandungan anti-inflamasi dalam flavonoid dipercaya sebagai hasil dari inhibisi enzim siklooksigenase. Telah dibuktikan bahwa semua obat-obatan anti-inflamasi herbal dapat mempengaruhi COX-1 dan COX-2 (Londonkar *et al.*, 2013). Penyelidikan terhadap [6]-gingerol, [6]-gingerdion, [10]-gingerdion, [6]-dehidrogingerdion, dan [10]-dehidrogingerdion, yang berasal dari rimpang *Z. officinale* menunjukkan bahwa senyawa-senyawa ini memberikan efek yang kuat dalam menghambat biosintesis prostaglandin (Kiuchi, 1982 dalam Achmad *et al.*, 2009).



**Gambar 2.5 Efek Senyawa 8-shogaol dan 10-shogaol terhadap Aktivitas COX-1 dan COX-2 (Breemen *et al.*, 2011)**

Keterangan: Efek pemberian senyawa murni 8-shogaol (gambar kiri) dan 10-shogaol (gambar kanan) dalam berbagai dosis pada aktivitas COX-1 dan COX-2 rekombinan.

**2.6 Tikus Wistar**

*Rattus norvegicus* atau yang disebut dengan tikus Norway berasal dari daerah utara China. Namun saat ini tikus Norway (atau yang biasa disebut tikus coklat) dapat ditemukan pada hampir setiap daerah di dunia. *Rattus norvegicus* merupakan famili tikus yang cukup besar. Rata-rata panjang dari tikus ini dari hidung sampai ekor sekitar 400 mm, dengan berat 140-500 gram. Tikus jantan biasanya lebih besar daripada tikus betina. Pada populasi normal, tikus ini diselimuti dengan bulu kasar pada permukaan dorsal yang biasanya warnanya



memudar di bagian bawah tubuhnya. Berbagai strain yang terlahir dari tikus ini terdiri dari strain putih, cokelat, dan hitam. Masa hidup *Rattus norvegicus* adalah empat tahun jika di dalam pemeliharaan. Tikus ini merupakan binatang yang nokturnal atau aktif pada malam hari. Hewan ini juga dapat merasakan atau sensitif terhadap getaran dari tanah (Armitage, 2004). *The Animal Diversity Web* menjelaskan klasifikasi ilmiah dari tikus wistar adalah sebagai berikut.

Kingdom : Animal  
 Filum : Chordate  
 Kelas : Mamalia  
 Ordo : Rodentia  
 Famili : Muridae  
 Genus : Rattus  
 Spesies : *Rattus norvegicus* (Myers *et al.*, 2017).

## 2.7 Siklus Estrus Tikus

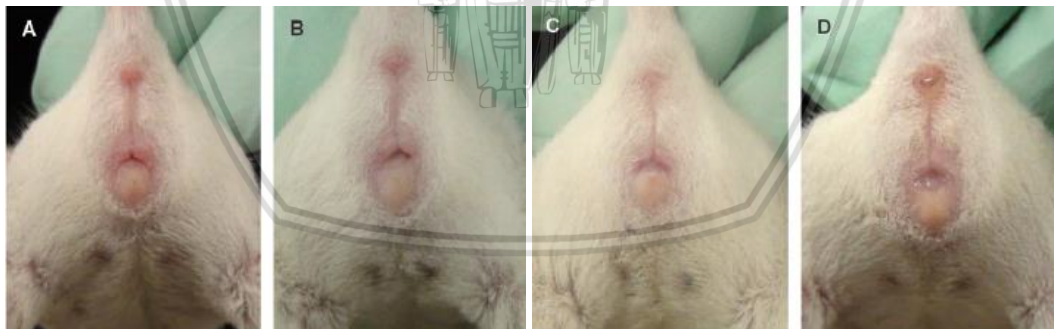
### 2.7.1 Definisi dan Karakteristik

Siklus reproduksi dari tikus betina disebut dengan siklus estrus atau *estrous cycle*. Definisi dari estrus sendiri adalah periode reseptivitas panas dan seksual dari tikus. Tikus betina akan dapat menerima hubungan seksual pada waktu dimana sel-sel terkornifikasi dari apusan vagina mulai bermunculan (Goldman *et al.*, 2007). Siklus estrus memiliki beberapa fase yang terdiri dari fase proestrus, estrus, metestrus (atau diestrus I) dan diestrus (atau diestrus II). Ovulasi terjadi sejak awal fase proestrus hingga akhir fase estrus. Sejak permulaan maturitas seksual di atas umur 12 bulan, rerata panjang siklus pada tikus betina berkisar empat hari (Marcondes *et al.*, 2002).

Sitologi menggunakan apusan vagina atau *vaginal smear* digunakan untuk membedakan masing-masing fase pada siklus estrus. Karakteristik dari

masing-masing fase dibedakan dari proporsi tiga tipe sel yang diamati dari apusan vagina yaitu sel-sel epitel, *cornified cells*, dan leukosit (Marcondes *et al.*, 2002). Sumber lain menyatakan terdapat beberapa jenis sel yang diklasifikasikan menjadi sel basofilik kecil atau sel basofilik besar, sel asidofilik bernukleus atau tanpa nukleus, sel pre-asidofilik atau leukosit. Dalam sebuah penelitian didapatkan bahwa tikus betina mengalami siklus estrus yang normal dengan rata-rata durasi 4,5 hari (Paccola *et al.*, 2013).

Dalam mengidentifikasi tahapan dalam siklus estrus tikus dapat juga dilakukan pengamatan visual. Pengamatan dilakukan dengan menarik ekor tikus ke atas dengan kaki depan tikus tetap memegang penutup kantung sehingga lubang vagina dapat diamati. Ketika mengkaji fase estrus tikus menggunakan metode visual, penting untuk selalu mengevaluasi tikus pada tempat yang sama dan dengan pencahayaan ruangan yang mendukung (Gambar 2.6).



**Gambar 2.6 Identifikasi Fase Estrus dengan Metode Pengamatan Lubang Vagina pada Tikus Albino (Byers *et al.*, 2012)**

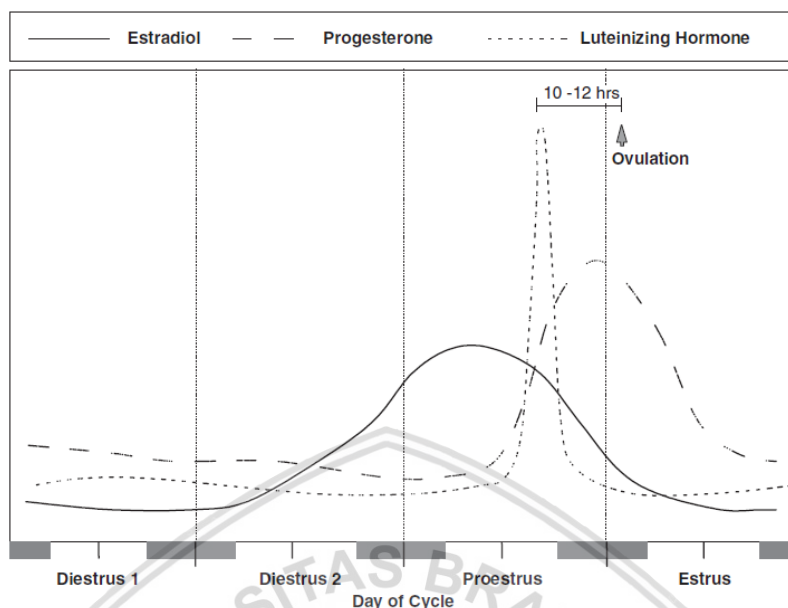
Keterangan: proestrus (A), estrus (B), metestrus (C), diestrus (D).

Pembukaan vagina pada tikus (Gambar 2.6) yang mencapai fase proestrus menunjukkan jaringan yang bengkak, lembab, dan berwarna merah muda. Lubang vagina membuka lebar dan seringkali terdapat kerutan pada sudut

dorsal dan ventral. Ketika mencapai fase estrus, jaringan berwarna lebih pucat, sedikit lembab, dan sedikit bengkak. Fase metestrus ditunjukkan dengan lubang vagina yang tidak terlalu terbuka lebar, tidak bengkak, dan sel-sel keputihan terlihat. Saat fase diestrus, lubang vagina hanya terbuka sedikit dan hampir tertutup tanpa adanya pembengkakan jaringan (Byers *et al.*, 2012).

### 2.7.2 Perubahan Hormonal pada Siklus Estrus

Selama siklus estrus, hormon-hormon seperti prolaktin, LH, dan FSH terbilang rendah dan meningkat pada siang hari dari fase proestrus. Kadar estradiol mulai meningkat pada fase metestrus dan kembali ke *baseline* saat estrus. Sekresi progesteron juga meningkat selama metestrus dan diestrus dengan penurunan setelahnya. Kadar progesteron meningkat hingga kedua kalinya pada akhir fase proestrus (Marcondes *et al.*, 2002). Selama fase proestrus, kadar estrogen meningkat dan folikel-folikel ovarium berkembang pesat. Ovulasi terjadi ketika malam hari fase estrus, 10-12 jam setelah lonjakan LH (*Luteinizing Hormone*). Jika tidak difertilisasi, *corpora lutea* berfungsi sementara dan mensekresikan progesteron dalam jumlah kecil (Johnson, 2007).



**Gambar 2.7 Pola Konsentrasi Serum Estradiol, Progesteron, dan LH pada Siklus Estrus Tikus (Goldman *et al.*, 2007)**

Keterangan: Ovulasi terjadi saat pagi hari fase estrus, tepatnya 10-12 jam setelah lonjakan LH. Kotak hitam di bawah menunjukkan periode waktu 14:10 jam terang:gelap.

Keratinisasi dari sel-sel epitel vagina merupakan hasil dari peningkatan kadar estradiol yang mulai terjadi pada hari kedua fase diestrus and meningkat sekitar pertengahan hari proestrus. Peningkatan estradiol ini juga mempengaruhi pituitari dan hipotalamus untuk merangsang lonjakan LH pra-ovulasi. Kehadiran siklus vagina reguler tidak selalu mengindikasikan bahwa telah terjadi proses ovulasi. Pada tikus, proses luteinisasi dari folikel yang mengikuti pelepasan oosit dapat juga terjadi pada folikel yang tidak ruptur. Hal itu dapat terjadi pada tikus yang diberi perlakuan dengan zat-zat anti-inflamasi (Goldman *et al.*, 2007).

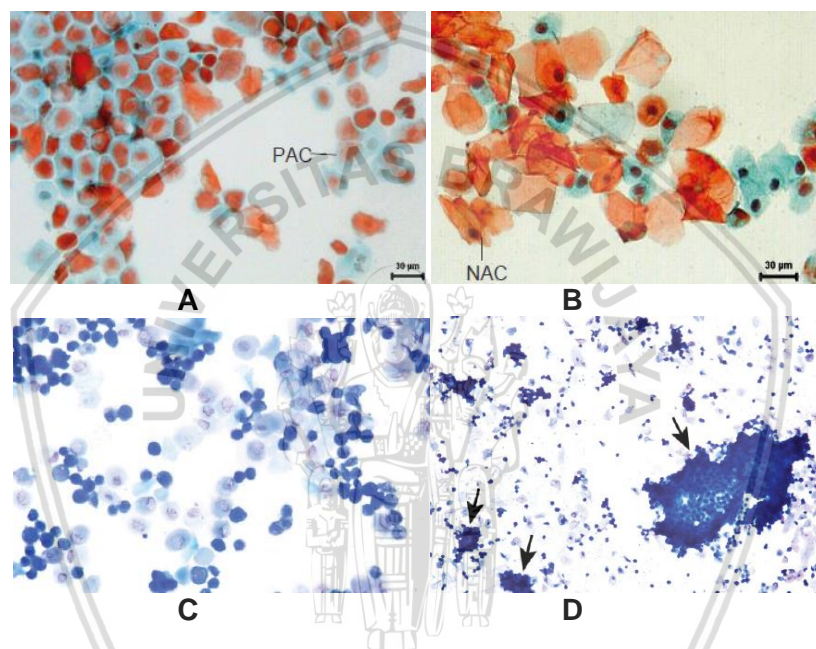
### 2.7.3 Fase pada Siklus Estrus

#### 2.7.3.1 Proestrus

Proestrus merupakan fase yang singkat, berlangsung sekitar 14 jam pada tikus. Penampakan epitel vagina yang mendominasi dalam fase ini adalah sel-sel



epitel bernukleus yang kecil dan bulat dengan ukuran yang hampir seragam. Biasanya tidak ditemukan sel-sel neutrofil atau leukosit pada fase ini, kecuali tikus sedang dalam fase peralihan dari diestrus ke proestrus. Jika fase mulai menuju ke estrus, sel-sel bertanduk mulai bemunculan (Paccola *et al.*, 2013 & Cora *et al.*, 2015).



**Gambar 2.8 Penampakan Sitologi Vagina Tikus Fase Proestrus (Paccola *et al.*, 2013 & Cora *et al.*, 2015)**

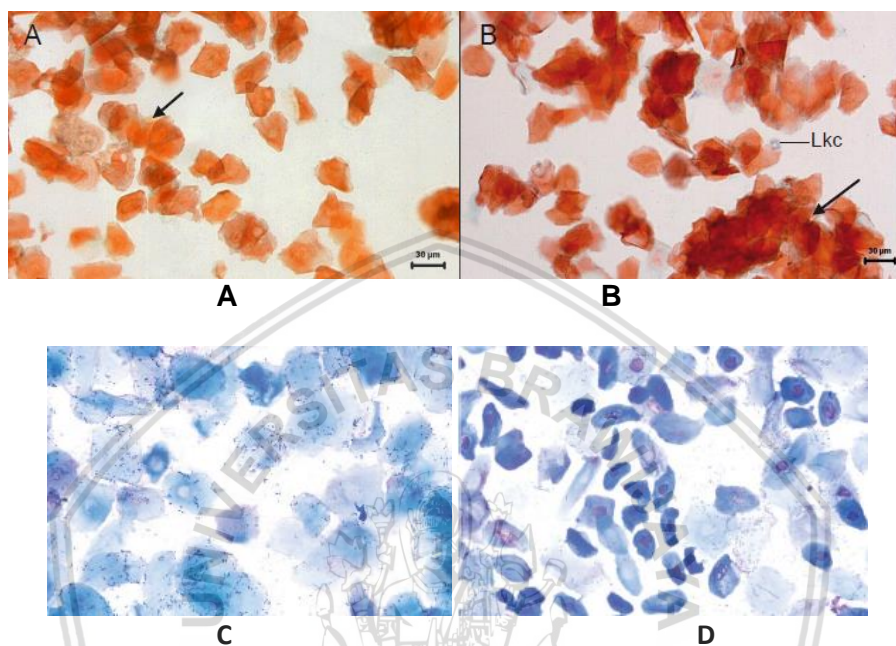
Keterangan : Fase proestrus (A,C,D) dan peralihan proestrus ke estrus (B). Slide epitel dengan pewarna orans Shorr-stain (A, B) dan slide epitel dengan pewarna Giemsa (C,D).

### 2.7.3.2 Estrus

Durasi dari fase estrus berkisar antara 24 sampai 48 jam pada tikus. Sel asidofilik tanpa nukleus jumlahnya paling tinggi dibandingkan jenis sel lainnya, berkisar 90% dari total sel epitel. Sel tersebut paling mendominasi pada pertengahan fase estrus. Semakin lama estrus, jumlah sel ini bertambah dan semakin membesar ukurannya. Pada akhir fase estrus, sel-sel epitel berinti mulai



bermunculan dengan ukuran dan bentuk yang beragam. Sel-sel leukosit juga sedikit bermunculan pada akhir fase (Paccola *et al.*, 2013 & Cora *et al.*, 2015).

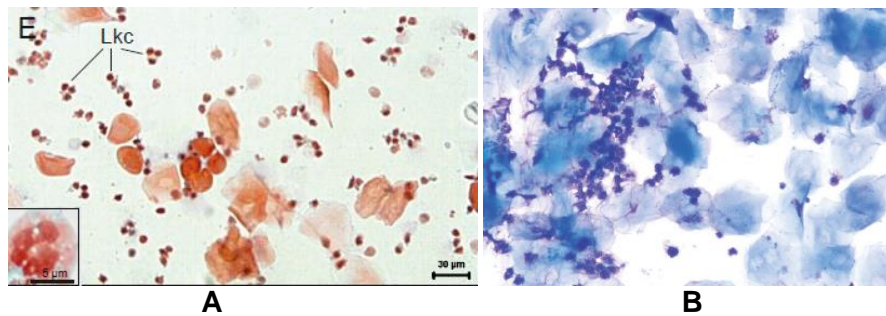


**Gambar 2.9 Penampakan Sitologi Vagina Tikus Fase Estrus (Paccola *et al.*, 2013 & Cora *et al.*, 2015)**

Keterangan : Fase estrus (A,C) dan fase estrus akhir (B,D). Slide epitel dengan pewarna orens Shorr-stain (A, B) dan slide epitel dengan pewarna Giemsa (C,D).

### 2.7.3.3 Metestrus

Durasi dari fase ini berkisar 6-8 jam pada tikus. Pada fase metestrus, terdapat kombinasi dari sel-sel epitel tanpa nukleus dan neutrofil atau leukosit. Sel-sel epitel bernukleus juga masih ada pada awal fase. Sel-sel epitel terkadang melekat dengan neutrofil. Semakin lama fase metestrus, neutrofil semakin banyak melebihi sel-sel epitel. Beberapa peneliti ada yang menganggap fase ini sebagai diestrus karena memiliki penampakan sel epitel yang hampir sama (Paccola *et al.*, 2013 & Cora *et al.*, 2015).

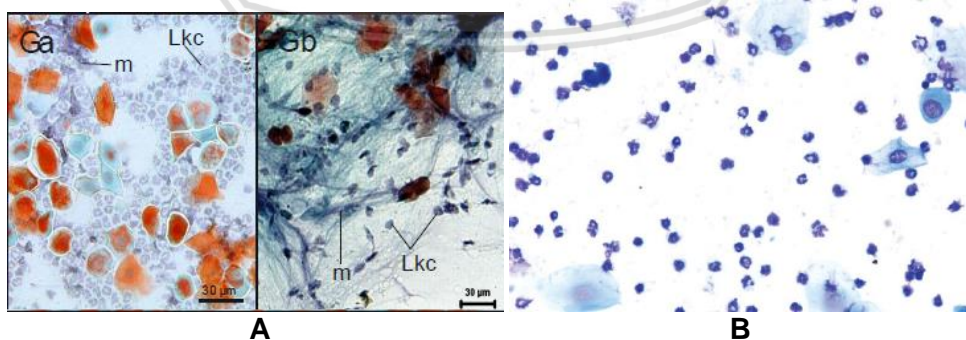


**Gambar 2.10 Penampakan Sitologi Vagina Tikus Fase Metestrus (Paccola et al., 2013 & Cora et al., 2015)**

Keterangan : Slide epitel dengan pewarna orens Shorr-stain (A) dan slide epitel dengan pewarna Giemsa (B).

### 2.7.3.4 Diestrus

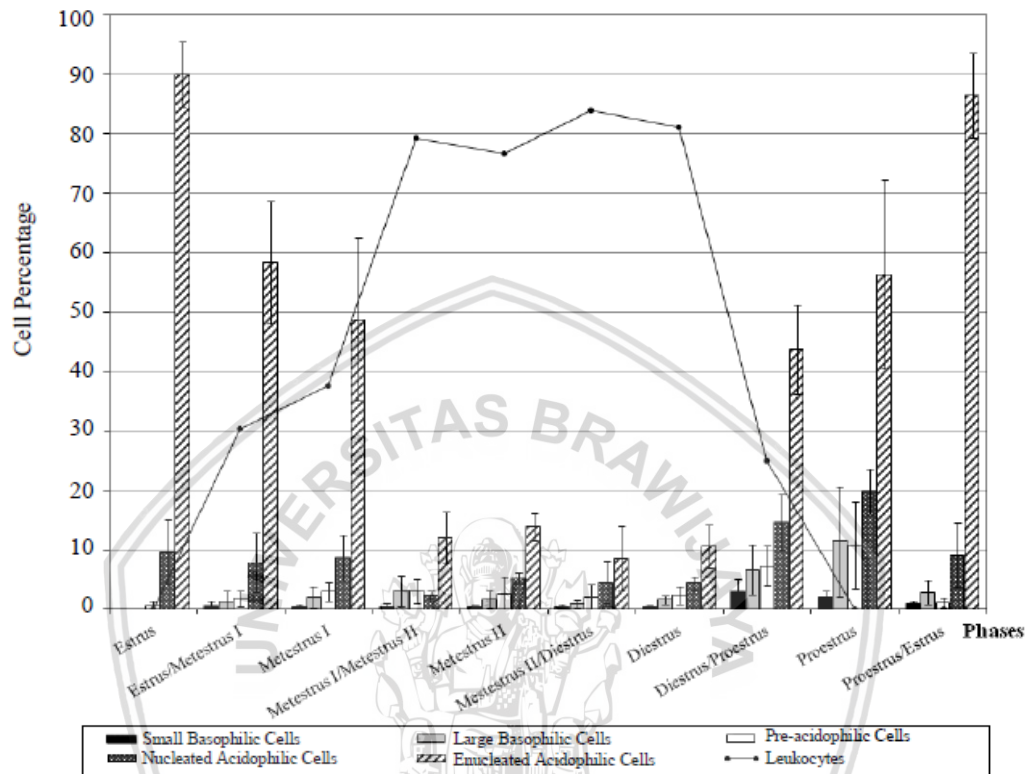
Diestrus merupakan fase terpanjang dari siklus estrus dengan durasi rata-rata 48-72 jam. Fase ini ditandai dengan berkurangnya jumlah sel epitel tanpa nukleus. Jumlah neutrofil beragam namun biasanya lebih tinggi dibanding jumlah sel epitel. Mukus mulai muncul selama transisi dari fase metestrus ke diestrus, dan menjadi lebih banyak pada pertengahan fase diestrus. Pada akhir diestrus, sel-sel epitel mulai berbentuk bulat yang mengindikasikan perpindahan menuju fase proestrus (Paccola et al., 2013 & Cora et al., 2015).



**Gambar 2.11 Penampakan Sitologi Vagina Tikus Fase Diestrus (Paccola et al., 2013 & Cora et al., 2015)**

Keterangan : Penampakan mukus tebal pada pertengahan fase diestrus (A) dan slide epitel dengan pewarnaan Giemsa (B).

Jika dilihat berdasarkan grafik, perbedaan jumlah populasi sel-sel epitel vagina pada tiap fase dapat dilihat pada Gambar 2.11.



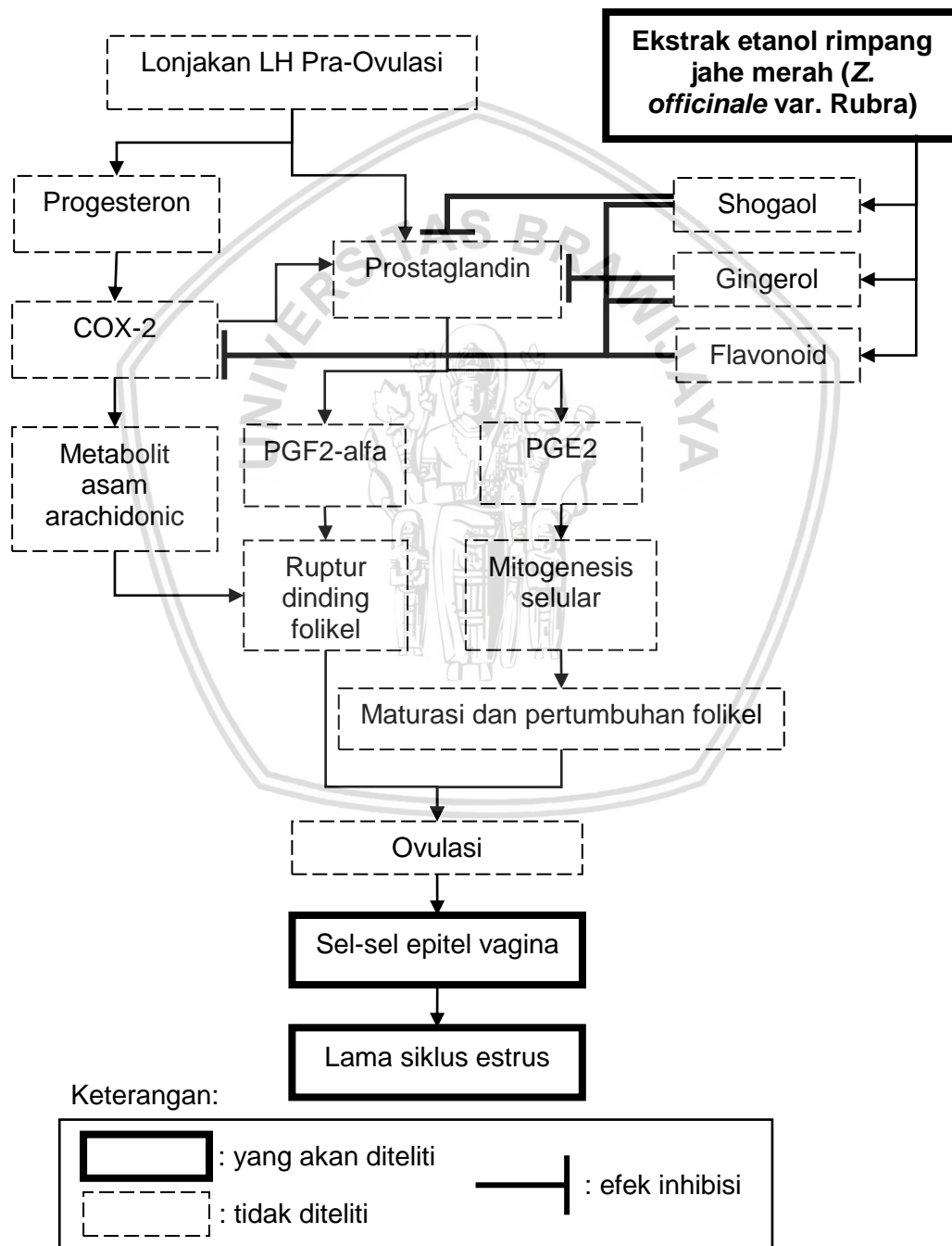
**Gambar 2.12** Prosentase Sel Epitel dan Leukosit Apusan Vagina Tikus pada Setiap Fase Estrus dan Periode Transisinya (Paccola *et al.*, 2013)

Keterangan: Perhitungan jumlah sel dilakukan pada satu lapang pandang dengan perbesaran mikroskop 400X. Jumlah sel pada setiap fase estrus dihitung dari 10 preparat yang berbeda kemudian dihitung rata-ratanya.

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan kerangka konsep:

Lonjakan LH (*Luteinizing Hormone*) yang terjadi sesaat sebelum ovulasi menstimulasi sekresi dari progesteron. Pelepasan progesteron meningkatkan ekspresi enzim *cyclooxygenase-2* (COX-2) yang terinduksi untuk mensintesis prostaglandin dan menurunkan ekspresi 15-hidroksiprostaglandin dehidrogenase (PGDH) yang mendegradasi prostaglandin. COX-2 adalah enzim yang penting dalam proses ovulasi. Ini merupakan enzim yang esensial dalam proses ovulasi melalui zat-zat metabolit *arachidonic acid*, yang memegang peranan penting dalam ruptur folikel.

Lonjakan LH pra-ovulasi juga memicu sekresi prostaglandin yang pesat sehingga terjadilah ovulasi. Ketika ovulasi, dinding folikel mengalami ruptur karena rangsangan PGF<sub>2</sub>-alfa. PGE<sub>2</sub> juga berperan dalam mitogenesis selular dan ketahanan, sebuah proses yang esensial untuk pertumbuhan folikel dan maturasi. Sehingga dapat dikatakan ovulasi tidak akan terjadi tanpa kenaikan kadar prostaglandin.

Jahe diketahui dapat menghambat kadar prostaglandin E<sub>2</sub> dan prostasiklin yang tinggi. Jahe merah memiliki pengaruh yang supresif terhadap inflamasi akut dan kronis. Sehingga efek inhibisi dari jahe terhadap kadar enzim siklooksigenase dan prostaglandin dapat menghambat terjadinya ruptur folikel yang merupakan proses dalam ovulasi dan menghambat maturasi folikel.

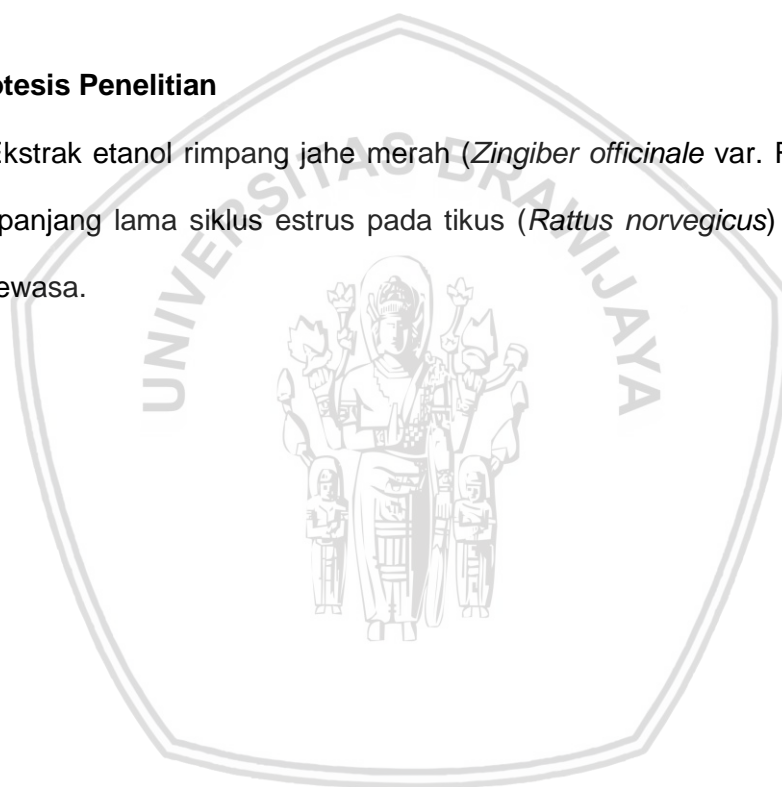
Senyawa bioaktif yang dikandung dalam jahe merah adalah gingerol dan shogaol. Senyawa gingerol dan derivatnya diketahui sebagai penghambat biosintesis prostaglandin. Selain itu, senyawa shogaol yang terkandung dalam jahe merah juga merupakan penghambat sintesis COX-2 yang paling potensial setelah gingerol. Senyawa ini berikatan dengan sisi aktif dan ligan dari COX-2.



Zat derivat flavonoid yang terkandung di dalam jahe diketahui dapat menghambat aktivitas siklooksigenase dan mempengaruhi proses ovulasi. Kandungan anti-inflamasi dalam flavonoid dipercaya sebagai hasil dari inhibisi enzim siklooksigenase. Proses yang terjadi selama ovulasi merupakan proses yang sensitif hingga gangguan dari luar dapat mempengaruhi faktor-faktor ovulasi dan dapat memicu terjadinya kegagalan ovulasi.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) dapat memperpanjang lama siklus estrus pada tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar betina dewasa.





## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental murni (*pure experimental design*) secara *in vivo* dengan rancangan penelitian *Pre-test and Post-test with Control Group Design* yang membandingkan hasil yang didapat pada saat sebelum (*pre test*) dan sesudah (*post test*) perlakuan dengan kelompok kontrol.

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar betina dewasa, yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pemakaian tikus ini sebagai hewan coba, dikarenakan tikus jenis ini merupakan hewan coba yang mudah ditangani dan mudah dipelihara.

#### 4.2 Populasi dan Sampel

Sampel penelitian adalah tikus Wistar betina dewasa usia 8-12 minggu dengan berat 150-200 gram sebanyak 20 ekor. Sampel 20 ekor ini akan dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dengan rincian sebagai berikut.

1. Kelompok Perlakuan 1 : Tikus yang diberikan ekstrak jahe merah dosis 0,3 gram/kgBB
2. Kelompok Perlakuan 2 : Tikus yang diberikan ekstrak jahe merah dosis 0,6 gram/kgBB

3. Kelompok Perlakuan 3 : Tikus yang diberikan ekstrak jahe merah  
dosis 1,2 gram/kgBB

4. Kelompok Kontrol : Tikus dengan diet normal tanpa perlakuan

Penentuan dosis tersebut diadaptasi dari penelitian Lestari (2002) yang menguji efek anti-inflamasi ekstrak jahe merah. Jumlah pengulangan (n) pada setiap perlakuan (p) dihitung dalam Solimun (2002) adalah sebagai berikut:

$$p(n - 1) \geq 15$$

$$pn - p \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Jadi jumlah sampel minimal pada setiap kelompok perlakuan sesuai rumus di atas adalah 5. Berdasarkan hasil perhitungan tersebut maka keseluruhan jumlah sampel adalah  $5 \times 4 = 20$  ekor tikus dengan penambahan sampel sebanyak 1 ekor pada tiap kelompok perlakuan sebagai hewan coba cadangan sehingga total hewan coba yang dibutuhkan sebanyak 24 ekor.

#### 4.2.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi dari sampel penelitian adalah tikus Wistar dengan kondisi tersebut di bawah ini:

- a. Sehat, ditandai dengan pergerakan yang aktif, mata yang jernih, dan bulu yang tebal berwarna putih
- b. Jenis kelamin: betina
- c. Usia 8-12 minggu
- d. Berat 150-200 gram

- e. Siklus estrus normal selama 2 siklus berturut-turut: 4-5 hari

#### 4.2.2 Kriteria Eksklusi

- a. Tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung
- b. Tikus yang mengalami penurunan berat badan >10% setelah masa adaptasi di laboratorium
- c. Tikus yang diketahui hamil selama penelitian

#### 4.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari variabel bebas (*independent variable*) dan variabel terikat (*dependent variable*) dengan rincian sebagai berikut.

- a. Variabel bebas: Pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) dalam 3 dosis
- b. Variabel terikat: Lama fase estrus tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar betina dewasa

#### 4.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September sampai Oktober 2017. Seluruh prosedur mulai dari perawatan tikus, pemberian perlakuan, dan pengambilan data dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

#### 4.5 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian dikelompokkan berdasarkan prosedur dalam penelitian sebagai berikut.

##### 1. Pemeliharaan hewan coba

Alat : kandang tikus berukuran 30 cm x 30 cm x 12 cm, tempat makan tikus, tempat minum tikus, kawat kassa, timbangan untuk mengukur berat hewan coba.

Bahan : sekam sebagai alas kandang tikus, air untuk minum, diet untuk hewan coba. Diet yang diberikan dalam penelitian ini adalah diet normal yaitu *comfeed* PARS.

##### 2. Pengambilan sampel sitologi dan pewarnaan preparat apusan vagina

Alat : cotton bud steril, kaca objek, penutup kaca objek, mikroskop cahaya, sarung tangan.

Bahan : Normal Saline (NaCl 0,9%), larutan etanol 100%, aquades, larutan *methylene blue*.

##### 3. Pembuatan ekstrak etanol rimpang jahe merah

Alat : pisau, blender, labu erlenmeyer, timbangan, oven, kertas saring ukuran 30 mesh, pendingin spiral/*rotary evaporator* untuk memisahkan ekstrak dengan pelarut, labu evaporator, labu penampung etanol, corongan gelas, selang *water pump*, *water pump*, *water bath*, *vacuum pump*, botol kaca gelap bertutup.

Bahan : rimpang jahe merah segar (*Zingiber officinale* var. *Rubra*), etanol 96%, aquades.

#### 4. Pemberian perlakuan kepada hewan coba

Alat : sonde lambung, sarung tangan.

Bahan : ekstrak etanol rimpang jahe merah yang telah diencerkan dalam berbagai dosis.

### 4.6 Definisi Operasional

**Tabel 4.1 Definisi Operasional Penelitian**

No.	Variabel	Definisi Operasional	Satuan	Skala
1	Tikus betina dewasa	Tikus betina dewasa yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) strain wistar betina dengan usia kurang lebih 3 bulan (8-12 minggu) yang telah mengeluarkan sekresi mukus vagina.	ekor	Rasio
2	Ekstrak etanol rimpang jahe merah	Rimpang jahe merah ( <i>Zingiber officinale</i> var. <i>Rubra</i> ) yang telah melalui proses ekstraksi dengan larutan etanol 96% dan evaporasi. Ekstrak tersebut kemudian dibagi menjadi beberapa dosis.	gram/kg BB	Rasio
3	Lama estrus siklus	Siklus estrus tikus yang dibagi menjadi empat fase yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus. Lamanya setiap fase pada siklus estrus tikus dilihat dari pengamatan apusan vagina di bawah mikroskop cahaya yang dilakukan 2 kali sehari. Peneliti membedakan fase siklus estrus tiap tikus dengan mengidentifikasi sel-sel epitel dan leukosit yang karakteristiknya berbeda-beda pada setiap fase. Perbedaan karakteristik sel epitel vagina pada setiap fase dapat dilihat pada gambar 2.7, 2.8, 2.9, 2.10, dan 2.11.	jam atau hari	Rasio

## 4.7 Prosedur Penelitian

### 4.7.1 Persiapan dan Pemeliharaan Hewan Coba

1. Tikus ditimbang sesuai dengan kriteria inklusi untuk mendapatkan subjek yang diinginkan.
2. Setelah didapatkan subjek yang sesuai kriteria, tikus diberikan masa adaptasi selama 7 hari pada kondisi laboratorium, tempat percobaan, waktu makan, kandang, dan eksplorasi terhadap pakan tikus. Pemberian minum dan makan dengan diet normal disediakan *ad libitum*.
3. Penempatan subjek penelitian dalam kandang terpisah (1 ekor per kandang) untuk menghindari terjadinya pemanjangan siklus estrus dan mempermudah perlakuan yang diberikan pada tikus.
4. Dilakukan randomisasi perlakuan agar setiap hewan coba memiliki peluang yang sama untuk mendapatkan perlakuan.

### 4.7.4 Pengambilan Sampel Sitologi dan Pewarnaan Preparat Apusan Vagina

Sebelum tikus diberikan perlakuan, maka dilakukan pemeriksaan apusan vagina untuk mengetahui siklus estrus setiap tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar telah berada pada fase proestrus, estrus, metestrus, atau diestrus. Identifikasi awal fase estrus setiap tikus ini dilakukan selama 2 kali siklus. Selain itu, pemeriksaan apusan vagina ini dilakukan untuk mengidentifikasi apakah lama siklus estrus setiap tikus normal atau tidak (satu siklus berlangsung selama 4-5 hari). Pengambilan sampel sitologi dilakukan 1 kali sehari yaitu pada pukul 08.00 – 09.00 WIB (Marcondes *et al.*, 2013). Adapun prosedur pengambilan sampel sitologi dan pewarnaan preparat apusan vagina dalam Harlis (2014) adalah sebagai berikut.



1. Tikus dipegang dengan benar dan tidak terlalu kasar dengan menggunakan sarung tangan.
2. *Cotton bud* steril dibasahi dengan larutan NaCl 0,9% kemudian dimasukkan ke dalam lubang vagina tikus betina.
3. Dilakukan pengusapan sebanyak 1-2 kali putaran.
4. Hasil usapan dari *cotton bud* dioleskan pada kaca objek dan dikeringkan.
5. Pengambilan sampel apusan vagina dibuat sebanyak 1 preparat atau kaca objek untuk 1 ekor tikus.
6. Preparat apusan yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam larutan alkohol untuk difiksasi selama 3 menit kemudian diangkat dan diangin-anginkan.
7. Preparat dimasukkan ke dalam larutan *Giemsa* 3% selama 2 menit kemudian diangkat dan dibilas dengan air mengalir lalu dikeringkan.
8. Setelah preparat apusan siap, morfologi sel epitel apusan vagina diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 40X kemudian dilakukan pencatatan dan pendokumentasian.
9. Setelah teridentifikasi fase estrus pada setiap ekor tikus, diberi identitas pada setiap tikus dengan meletakkan kertas label pada setiap kandang tikus.

#### 4.7.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah

Pembuatan ekstrak etanol rimpang jahe merah dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96%. Etanol 96% digunakan sebagai pelarut karena dapat menghasilkan kadar senyawa-senyawa bioaktif jahe seperti gingerol dan shogaol yang lebih tinggi dibandingkan jenis pelarut organik lain maupun pelarut

etanol fraksi lain (Hu *et al.*, 2011). Proses ekstraksi ini menggunakan metode maserasi yang terdiri dari tiga tahap yaitu tahap pengeringan, ekstraksi, dan evaporasi. Adapun rimpang jahe merah segar didapatkan dari Batu Materia Medika, Kota Batu. Berikut adalah prosedur pembuatan ekstrak etanol rimpang jahe merah.

#### A. Tahap Pengeringan

1. Rimpang jahe merah segar dipisahkan dari yang rusak dan bertunas, dicuci sampai bersih dari tanah dan kotoran lainnya lalu dikeringkan.
2. Diiris tipis-tipis dengan tebal 1-2 mm dan dikeringkan menggunakan oven bersuhu 80°C hingga kering (bebas dari kandungan air).

#### B. Tahap Ekstraksi

1. Setelah kering, rimpang jahe merah diblender sampai halus dan berbentuk bubuk.
2. Sampel kering (bubuk jahe merah) ditimbang sebanyak 100 gram.
3. Dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer berukuran 1 liter
4. Direndam dengan larutan etanol 96% hingga mencapai volume 900 ml.
5. Dikocok hingga benar-benar tercampur yaitu selama  $\pm$  30 menit.
6. Campuran didiamkan selama 1 malam hingga terbentuk endapan.

#### C. Tahap Evaporasi

1. Lapisan atas campuran etanol dengan zat aktif diambil dan dipisahkan.
2. Dimasukkan dalam labu evaporasi berukuran 1 liter.
3. Labu evaporasi dipasang pada evaporator.
4. *Water bath* diisi dengan air sampai penuh.
5. Semua rangkaian alat dipasang termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (atur sampai 90°), disambungkan dengan listrik.

6. Larutan etanol dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada di dalam labu.
7. Aliran etanol ditunggu sampai berhenti menetes pada labu penampung ( $\pm$  1,5 sampai 2 jam untuk 1 labu)  $\pm$  900 ml.
8. Hasil yang diperoleh sekitar 20% dari bahan alam kering.
9. Hasil ekstraksi dimasukkan dalam botol kaca gelap bertutup yang telah disiapkan dan disimpan dalam *freezer*.

#### 4.7.4 Pemberian Perlakuan pada Hewan Coba

Setelah diamati apusan vagina pada setiap tikus selama 2 kali siklus, maka dapat diketahui fase estrus setiap tikus. Ekstrak etanol rimpang jahe merah diberikan secara per oral menggunakan sonde lambung dengan dosis yang telah ditentukan pada tikus yang sudah memasuki permulaan fase estrus. Pemberian perlakuan dalam sehari dilakukan 2 kali pemberian yaitu pada pukul 10.00 WIB dan 14.00 WIB dengan membagi dosis menjadi 2 kali dalam sehari selama 3 kali siklus (Tabel 4.1). Pemberian perlakuan dilakukan dalam 2 waktu pemberian berdasarkan penelitian dari Akpantah *et al.* (2005) yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji *Garcinia kola* yang juga memiliki kandungan anti-inflamasi pada waktu-waktu tersebut dapat mengurangi jumlah ovum dengan perbedaan yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol. Khusus untuk kelompok kontrol, diberikan perlakuan dengan memasukkan aquadest menggunakan sonde lambung. Selama pemberian perlakuan, tetap dilakukan pemeriksaan apusan vagina pada setiap tikus untuk mengidentifikasi lama tiap fase estrus. Pemberian perlakuan dilakukan selama 3 kali siklus dan dihentikan saat tikus mencapai permulaan fase estrus kembali. Hal tersebut dilakukan karena pemberian zat

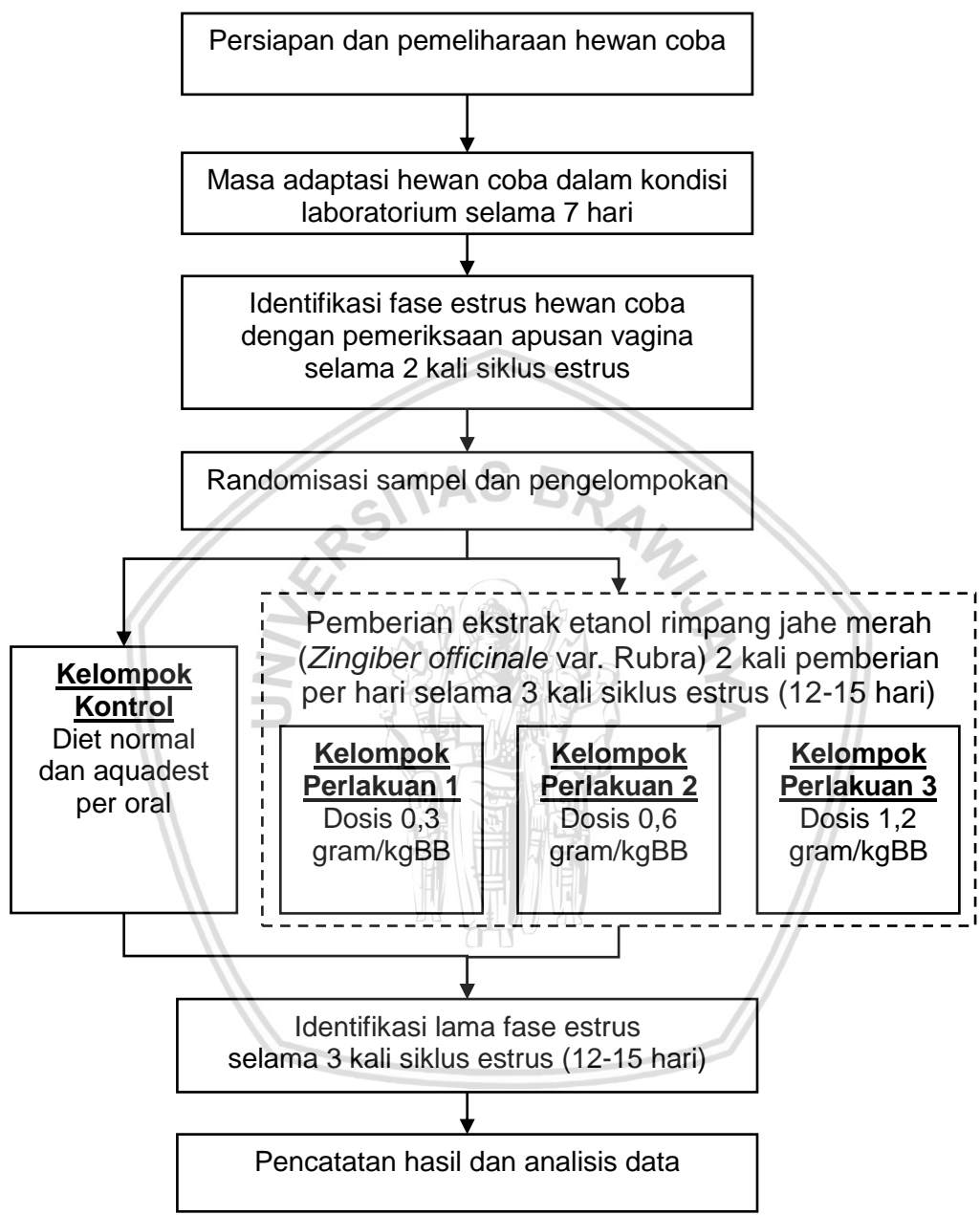
antiinflamasi dapat mengganggu ovulasi jika diberikan sebelum terjadi lonjakan LH yaitu sekitar pukul 14.00 fase proestrus (Gaytán *et al.*, 2002).

**Tabel 4.2 Rincian Dosis Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah pada Kelompok Perlakuan dalam Satu Hari**

Kelompok Perlakuan	Dosis dalam Sehari	Dosis Pemberian	
		Pukul 10.00 WIB	Pukul 14.00 WIB
1	0,3 gram/kgBB	0,15 gram/kgBB	0,15 gram/kgBB
2	0,6 gram/kgBB	0,3 gram/kgBB	0,3 gram/kgBB
3	1,2 gram/kgBB	0,6 gram/kgBB	0,6 gram/kgBB



**4.8 Diagram Alur Penelitian**



**Gambar 4.1 Diagram Alur Penelitian**

#### 4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini akan dianalisis secara statistik dengan menggunakan program *SPSS 20.0 for Windows* dengan tingkat signifikansi 0.05 ( $p < 0,05$ ). Langkah-langkah pengujian data adalah sebagai berikut.

1. Uji normalitas data : bertujuan untuk mengetahui apakah data memiliki distribusi normal atau tidak. Untuk uji hipotesis, jika distribusi data normal menggunakan uji parametrik. Sedangkan jika distribusi data tidak normal maka menggunakan uji non-parametrik.
2. Uji homogenitas varian : jika varian dalam kelompok homogen, maka asumsi untuk menggunakan Anova pada uji parametrik terpenuhi.
3. Uji *One Way Anova* (parametrik) atau *Kruskal Wallis* (non-parametrik) : bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan.
4. Uji *Post Hoc* (parametrik) atau *Mann Whitney U* (non-parametrik) : untuk mengetahui perbandingan rata-rata secara berpasangan.



## BAB V

### HASIL PENELITIAN

#### 5.1 Karakteristik Sampel

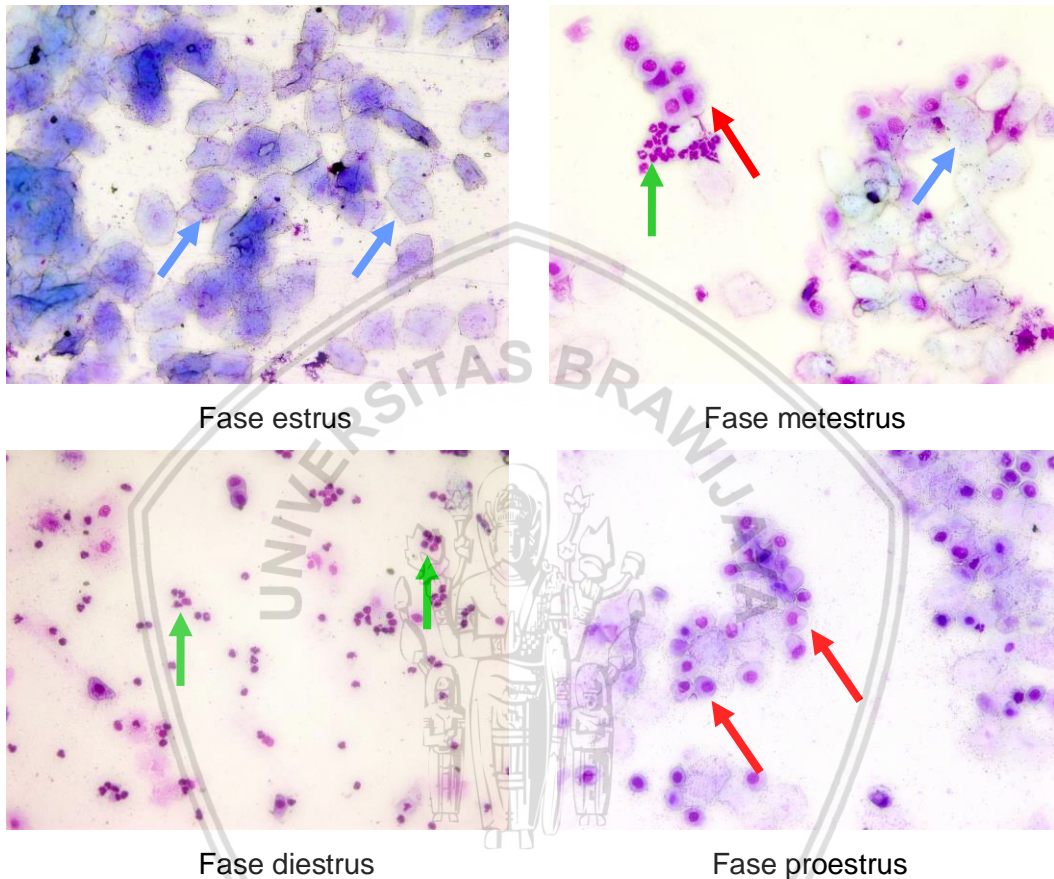
Dalam penelitian ini digunakan tikus sejumlah 24 ekor atau  $n = 6$  tiap kelompok perlakuan. Kriteria sampel yang digunakan adalah sebagai berikut.

1. Spesies : *Rattus norvegicus* strain Wistar
2. Jenis kelamin : Betina
3. Usia datang :  $\pm$  7-8 minggu
4. Warna bulu : Putih
5. Kondisi umum : Sehat, ditandai dengan pergerakan aktif, bulu tebal, tidak tampak abnormalitas

#### 5.2 Hasil Pengamatan Preparat Sitologi Apusan Vagina

Hasil pengamatan preparat sitologi apusan vagina menunjukkan adanya sel epitel tidak berinti yang dominan saat fase estrus. Pada fase metestrus tampak sel epitel berinti, sel epitel tidak berinti, dan sel leukosit yang proporsinya hampir sama. Pada fase diestrus tampak sel leukosit yang lebih dominan disertai sel epitel berinti yang lebih besar proporsinya dibanding sel epitel tidak berinti, namun tidak mendominasi. Pada fase proestrus tampak sel epitel berinti yang lebih dominan dibandingkan sel lainnya. Beberapa sel tersebut tampak menempel satu sama lain. Identifikasi fase estrus melalui apusan sel epitel vagina telah disesuaikan dengan penelitian dari Cora *et al.* (2015). Hasil

pengamatan preparat sitologi apusan vagina dapat dilihat pada gambar berikut ini.



**Gambar 5.1 Hasil Pengamatan Preparat Sitologi Apusan Vagina Tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar Betina Dewasa**

Keterangan: Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40X. Sel epitel tidak berinti ditunjukkan oleh panah biru, sel epitel berinti ditunjukkan oleh panah merah, dan sel leukosit ditunjukkan oleh panah hijau.

### 5.3 Hasil Penelitian

#### 5.3.1 Hasil Perhitungan Lama Siklus Estrus

Perhitungan lama siklus estrus *pre-test* dihitung dari dua siklus terakhir sebelum sampel diberikan perlakuan. Lama siklus yang melebihi lima hari dianggap tidak normal dan sampel tetap dilakukan identifikasi fase estrus hingga lama siklus mencapai  $\pm$  4-5 harus sesuai kriteria inklusi. Jumlah hari pada dua

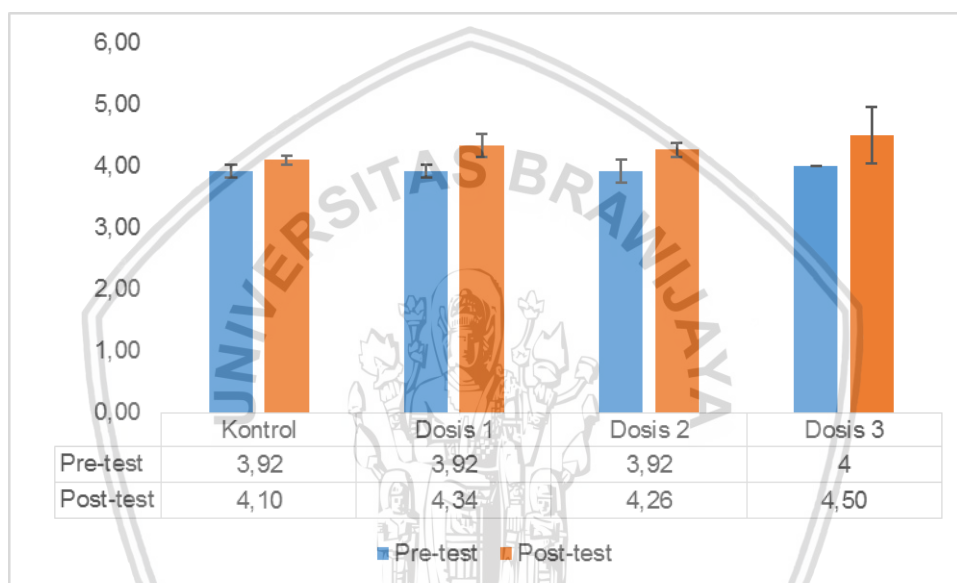
siklus terakhir sebelum diberi perlakuan kemudian dihitung rata-ratanya untuk dijadikan data. Sedangkan untuk perhitungan lama siklus estrus *post-test* dihitung dari hari pertama pemberian perlakuan tepatnya pada fase estrus, hingga mencapai fase estrus pada 3 siklus berikutnya. Jumlah hari pada siklus pertama hingga siklus ketiga kemudian dihitung rata-ratanya untuk dijadikan data (Tabel 5.1).

**Tabel 5.1 Rerata Lama Siklus (3 Siklus) dan Selisih Lama Siklus Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah**

Kelompok	Sampel	Rerata lama siklus (hari)		Delta
		Pre-test	Post-test	
Kontrol	K1	4	4	0
	K2	3,5	4	0,5
	K3	4	4,3	0,3
	K4	4	4	0
	K5	4	4	0
	K6	4	4,3	0,3
Dosis 1	A1	4	4	0
	A2	4	4	0
	A3	3,5	4	0,5
	A4	4	4,7	0,7
	A5	4	4,7	0,7
	A6	4	4,7	0,7
Dosis 2	B1	3,5	4,3	0,8
	B2	4	4	0
	B3	4	4	0
	B4	4	4,3	0,3
	B5	4,5	4,7	0,2
	B6	3,5	4,3	0,8
Dosis 3	C1	4	4	0
	C2	4	4	0
	C3	4	6,3	2,3
	C4	4	4	0
	C5	4	4,7	0,7
	C6	4	4	0

Keterangan: Delta adalah selisih dari rata-rata lama siklus post-test dikurangi rata-rata lama siklus pre-test

Rerata lama siklus *pre-test* dan *post-test* pada setiap kelompok perlakuan dihitung rata-rata dan dicari standar deviasinya. Kemudian data tersebut digambarkan dalam sebuah grafik agar dapat dilihat gambaran perbedaannya (Gambar 5.2). Pada kelompok perlakuan dosis 3 *post-test* menunjukkan standar deviasi tertinggi yaitu sebesar  $\pm 0,92$ .



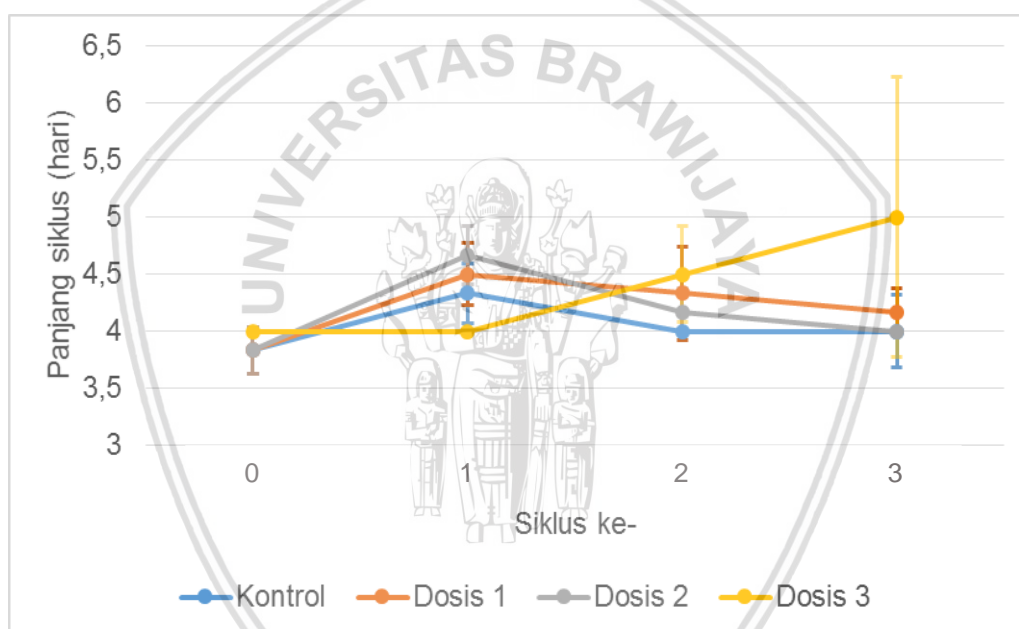
**Gambar 5.2 Rerata Lama Siklus (3 Siklus) Sebelum dan Selama Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah**

### 5.3.2 Gambaran Perubahan Lama Setiap Siklus

Pada penelitian ini dilihat bagaimana gambaran pemberian perlakuan terhadap perubahan lama siklus mulai dari siklus pertama hingga siklus ketiga pada masing-masing kelompok. Gambaran tersebut didapatkan melalui perhitungan rata-rata hari semua sampel di tiap siklus pada siklus pertama, siklus kedua, dan siklus ketiga (Tabel 5.2) yang kemudian diilustrasikan menggunakan grafik garis.

**Tabel 5.2 Rerata Perubahan Lama Setiap Siklus pada Setiap Kelompok Perlakuan**

Kelompok	Rerata panjang siklus (hari) $\pm$ standar deviasi			
	ke-0	ke-1	ke-2	ke-3
Kontrol (n=6)	3,8 $\pm$ 0,4	4,3 $\pm$ 0,5	4,0 $\pm$ 0,0	4,0 $\pm$ 0,6
Dosis 1 (n=6)	3,8 $\pm$ 0,4	4,5 $\pm$ 0,5	4,3 $\pm$ 0,8	4,2 $\pm$ 0,4
Dosis 2 (n=6)	3,8 $\pm$ 0,4	4,7 $\pm$ 0,5	4,2 $\pm$ 0,4	4,0 $\pm$ 0,0
Dosis 3 (n=6)	4,0 $\pm$ 0,0	4,0 $\pm$ 0,0	4,5 $\pm$ 0,8	5,0 $\pm$ 2,4



**Gambar 5.3 Pengaruh Pemberian Perlakuan terhadap Perubahan Panjang Setiap Siklus**

Keterangan: Siklus ke-0 adalah panjang siklus sebelum diberikan perlakuan ekstrak etanol rimpang jahe merah

Berdasarkan Gambar 5.3 dapat diketahui perubahan panjang siklus dalam satuan hari mulai dari siklus pertama hingga siklus ketiga pada masing-masing kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol, panjang siklus pertama menuju siklus kedua cenderung menurun, kemudian tetap pada siklus ketiga. Pada kelompok dosis 1, panjang siklus mulai dari siklus pertama hingga siklus

ketiga cenderung menurun. Pada kelompok dosis 2, panjang siklus mulai dari siklus pertama hingga siklus ketiga cenderung menurun. Pada kelompok dosis 3, panjang siklus mulai dari siklus pertama hingga siklus ketiga cenderung meningkat. Namun pada kelompok dosis 3 didapatkan standar deviasi yang paling besar dikarenakan pada kelompok ini jumlah sampel yang mengalami pemanjangan lama siklus sebanyak 2 dari 6 sampel atau sebesar 33%.

#### 5.4 Hasil Analisis Data

Pada penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas (independen) dan variabel terikat (dependen) dimana variabel bebasnya yaitu ekstrak etanol rimpang jahe merah dengan dosis 0,3 g/kgBB; 0,6 g/kgBB; dan 1,2 g/kgBB sedangkan variabel terikatnya adalah rata-rata jumlah hari dalam satu siklus. Data rata-rata jumlah hari dalam satu siklus estrus diuji normalitasnya menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Data dianggap terdistribusi secara normal apabila  $p > 0,05$ . Jika distribusi data normal, maka uji statistik dilanjutkan menggunakan metode uji parametrik. Jika distribusi data tidak normal, maka uji statistik dilanjutkan menggunakan metode uji non-parametrik. Dalam penelitian ini, uji normalitas menunjukkan data tidak terdistribusi secara normal ( $p < 0,05$ ). Data kemudian ditransformasi dan diuji ulang normalitas datanya. Hasil pengujian ulang tetap menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi secara normal. Oleh karena itu, dalam menguji besar perbandingan tiap kelompok digunakan uji non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis*.

Dalam menguji besar perbandingan tiap kelompok, digunakan data "delta" atau selisih jumlah hari post-test dengan pre-test sebagai perhitungan (Tabel 5.1). Berdasarkan perhitungan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*, didapatkan nilai



signifikansi sebesar 0,668 ( $p < 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok-kelompok perlakuan. Analisa statistik kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney U* sebagai pengganti uji *post hoc* pada uji parametrik. Hasil uji *Mann-Whitney U* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antara kelompok-kelompok secara berpasangan dengan nilai signifikansi di atas 0,05 pada setiap pasangan kelompok.

Dalam penelitian ini juga dihitung besarnya perbedaan lama siklus antar kelompok saat pemberian perlakuan di siklus pertama, kedua, dan ketiga. Setelah dilakukan uji normalitas data menggunakan *Shapiro Wilk*, didapatkan hasil bahwa distribusi data tidak normal, maka perhitungan perbedaan antar kelompok dilanjutkan dengan uji non-parametrik menggunakan *Kruskal Wallis*. Setelah dilakukan uji statistik perbedaan antar kelompok pada masing-masing periode siklus, didapatkan nilai signifikansi pada siklus pertama sebesar 0,113; siklus kedua sebesar 0,530; dan siklus ketiga sebesar 0,778; yang berarti tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan jika dibandingkan dari lama siklus pada tiap periode siklus.

Hasil uji korelasi Spearman untuk menganalisis hubungan antara dosis dan perubahan lama siklus menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,885 dan koefisien korelasi sebesar 0,031. Hal tersebut dapat diartikan bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara dosis pemberian dengan perubahan lama siklus dengan kekuatan korelasi yang lemah. Seluruh hasil analisa statistik terlampir pada lampiran 1.

## BAB VI

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Pengaruh Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah terhadap Lama Siklus

##### Estrus

Siklus estrus pada mamalia seperti tikus telah banyak dijadikan indikator dalam mengidentifikasi perubahan pada sistem reproduksi terutama proses ovulasi di dalam ovarium. Jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) diketahui dapat menghambat salah satu proses di dalam ovulasi yaitu maturasi dan rupturnya folikel melalui penghambatan sintesis prostaglandin dan COX-2. Di dalam penelitian ini, peneliti telah menguji bagaimana pemberian ekstrak etanolik jahe merah dapat mempengaruhi lama siklus estrus tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar betina. Jika dilihat dari tren atau gambaran panjang siklus dari siklus pertama sampai siklus ketiga selama pemberian perlakuan, diketahui bahwa terdapat tren penurunan panjang siklus pada kelompok dosis 1 dan dosis 2. Penelitian dari Akpantah *et al.* (2005) menyebutkan bahwa lama siklus estrus pada 2 minggu pertama perlakuan mengalami perubahan namun setelah 2 minggu perlakuan, lama siklus estrus kembali menjadi normal seperti awal. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak yang mulanya memberikan pengaruh pada lama siklus, semakin lama akan menurun efeknya hingga kembali menjadi normal.

Terkait gambaran perubahan panjang siklus, pada kelompok perlakuan dosis 3 terjadi peningkatan panjang siklus estrus. Namun pada kelompok ini, hanya 2 dari 6 sampel (33%) yang mengalami pemanjangan lama siklus, dimana

salah satu sampel mengalami pemanjangan lama siklus yang bermakna dari siklus pertama hingga siklus ketiga. Hal tersebut mungkin dapat disebabkan oleh karena jumlah sampel yang kurang dan respon dari tiap tikus yang berbeda-beda. Sedangkan pada kelompok kontrol, panjang siklus pertama sedikit meningkat lalu kemudian berangsur-angsur tetap pada siklus kedua dan siklus ketiga. Hal tersebut bisa terjadi karena tikus mengalami stress akibat pemberian aquades menggunakan sonde lambung. Namun seiring berjalannya waktu, tikus mulai terbiasa dengan perlakuan menggunakan sonde lambung. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi lama siklus estrus salah satunya adalah faktor stress (Cora *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil uji statistik perbandingan lama siklus pre dan post-test, tidak ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan begitu pula pada hasil uji statistik kelompok-kelompok berpasangan. Hal tersebut bertolak belakang dengan penelitian dari Lestari (2002) yang menguji ekstrak jahe merah dengan dosis 0,9 gr/kgBB; 1,8 gr/kgBB; dan 3,6 gr/kgBB terhadap nilai ambang nyeri tikus yang diinduksi inflamasi secara subkutan. Penelitian tersebut menunjukkan terdapat perbedaan ambang nyeri yang bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Perbedaan yang terjadi antara penelitian ini dengan penelitian sebelumnya mungkin disebabkan oleh target organ yang berbeda, dimana dalam penelitian ini yang menjadi target organ adalah ovarium sebagai salah satu organ reproduksi. Dalam proses rupturnya folikel dibutuhkan peningkatan produksi prostaglandin yang didapat dari membran fosfolipid sel melalui metabolisme asam arakidonat. Namun proses tersebut merupakan tahapan paling akhir terjadinya ovulasi. Masih ada tahapan yang lebih kompleks dalam siklus reproduksi meliputi peran hipotalamus,

kelenjar pituitari, dan hormon ovarium yang dapat berpengaruh pada lamanya siklus estrus (Londonkar *et al.*, 2013 dan Hernandez-Rey, 2015).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian zat anti-inflamasi pada manusia maupun hewan mamalia dapat menyebabkan sebuah kondisi yang disebut *luteinized unruptured follicles* (LUFs) dimana proses luteinisasi dari folikel setelah pengeluaran oosit dapat terjadi pada folikel-folikel yang tidak ruptur. Oleh karena itu, lamanya siklus estrus yang diidentifikasi melalui sitologi apusan vagina dapat terjadi secara normal tanpa ada perubahan yang signifikan (Goldman *et al.*, 2007). Hal tersebut juga didukung oleh penelitian sebelumnya pada hewan mamalia yang diberi obat penghambat sintesis prostaglandin menunjukkan durasi siklus estrus antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan selama dua siklus berturut-turut  $23,6 \pm 0,7$  hari dan  $24,5 \pm 0,9$  hari. Di sisi lain, 8 dari 11 sampel pada kelompok perlakuan dalam penelitian tersebut mengalami kondisi yang disebut LUFs. Hal tersebut menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan lama siklus yang signifikan antara kelompok yang diberikan administrasi obat anti-inflamasi dengan kelompok kontrol meskipun proses ovulasi telah dihambat (Cuervo-Arango *et al.*, 2011).

Pemberian zat penghambat prostaglandin mungkin dapat mempengaruhi konsentrasi hormon progesteron maupun LH jika diberikan dalam jangka waktu yang lebih lama. Cuervo-Arango *et al.* (2011) dalam penelitiannya menemukan bahwa terjadi penurunan konsentrasi hormon progesteron pada mamalia dengan LUFs. Hal tersebut dapat terjadi karena adanya penurunan vaskularisasi pada perkembangan jaringan terluteinisasi dari folikel yang tidak ruptur. Hal tersebut tentu berbeda jika dibandingkan dengan perkembangan jaringan korpus luteum pasca-ovulasi yang memproduksi hormon progesteron secara normal. Oleh

karena itu, gangguan pada produksi hormon progesteron pasca-ovulasi dapat mengganggu proses umpan balik negatif terhadap LH sehingga hal tersebut dapat menurunkan sekresi LH (Gastal *et al.*, 1999 dan Cuervo-Arango *et al.*, 2011).

Smith *et al.* (1996) dalam laporan kasusnya menyimpulkan bahwa terjadinya LUFs pada wanita yang diberi obat anti-inflamasi dapat menyebabkan infertilitas pada wanita. LUFs dapat terjadi pada 57 dari 100 siklus reproduksi wanita yang mengalami infertilitas. Oleh karena itu, untuk membuktikan efek zat anti-inflamasi jahe merah pada fertilitas, diperlukan penelitian lanjutan dengan mengawinkan tikus betina dengan tikus jantan.

Tidak adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan dalam penelitian ini juga dapat disebabkan oleh kandungan senyawa bioaktif dalam jahe merah yang belum mencapai kadar optimalnya. Di dalam jahe merah terdapat beberapa senyawa-senyawa bioaktif seperti gingerol dan shogaol dengan berbagai derivatnya yang bersifat anti-inflamasi. Kedua senyawa tersebut merupakan senyawa fenolik yang bersifat labil terhadap perubahan suhu dan tempat penyimpanan. Penelitian Ghasemzadeh *et al.* (2016) pada sampel rimpang jahe di Malaysia menemukan bahwa penyimpanan rimpang jahe kering selama 4 bulan pada suhu 5° C menurunkan kadar gingerol, shogaol, dan flavonoid hingga 10%. Sedangkan jika disimpan selama 4 bulan pada suhu 15° C, kadar gingerol menurun 33,7-70,5%; kadar shogaol menurun 42,1-53,19%, dan kadar flavonoid menurun 17,9-25,2%.

Ok dan Jeong (2012) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa untuk mengoptimalkan kadar 6-shogaol dalam ekstrak etanol dapat dilakukan melalui peningkatan suhu pengeringan dan suhu ekstraksi hingga 80° C. Penyesuaian

pH pelarut juga dapat mempengaruhi kadar shogaol, dimana kadar shogaol paling maksimal didapatkan jika ekstraksi menggunakan pelarut dengan pH paling asam. Namun dalam penelitian tersebut tidak disebutkan apakah pelarut asam dapat diterapkan dalam penelitian *in vivo*. Selain itu, jumlah kandungan kimia dalam jahe merah mungkin berbeda-beda. Hal tersebut tergantung pada kondisi lingkungan tempat tanaman jahe merah tumbuh dan berkembang. Oleh karena itu, perlu untuk dilakukan uji kandungan pada jahe merah yang digunakan dalam penelitian (Bermawie *et al.*, 2011).

## 6.2 Keterbatasan Penelitian

Dalam mengidentifikasi lama siklus estrus, peneliti hanya melakukan identifikasi fase estrus satu kali dalam sehari sehingga tidak dapat diketahui panjangnya siklus secara lebih mendetail dan masih ada beberapa fase estrus yang terlewat dikarenakan durasinya yang singkat (kurang dari 24 jam). Dalam hal ekstraksi jahe merah, peneliti tidak melakukan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) atau *High-Performance Liquid Chromatography* (HPLC) sehingga tidak dapat diketahui berapa kadar senyawa bioaktif dalam jahe merah yang dijadikan bahan penelitian ini. Selain itu, mengetahui bahwa jahe merah merupakan penghambat sintesis prostaglandin, peneliti tidak menguji lebih lanjut mengenai kadar prostaglandin di dalam ovarium tikus.



## BAB VII

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

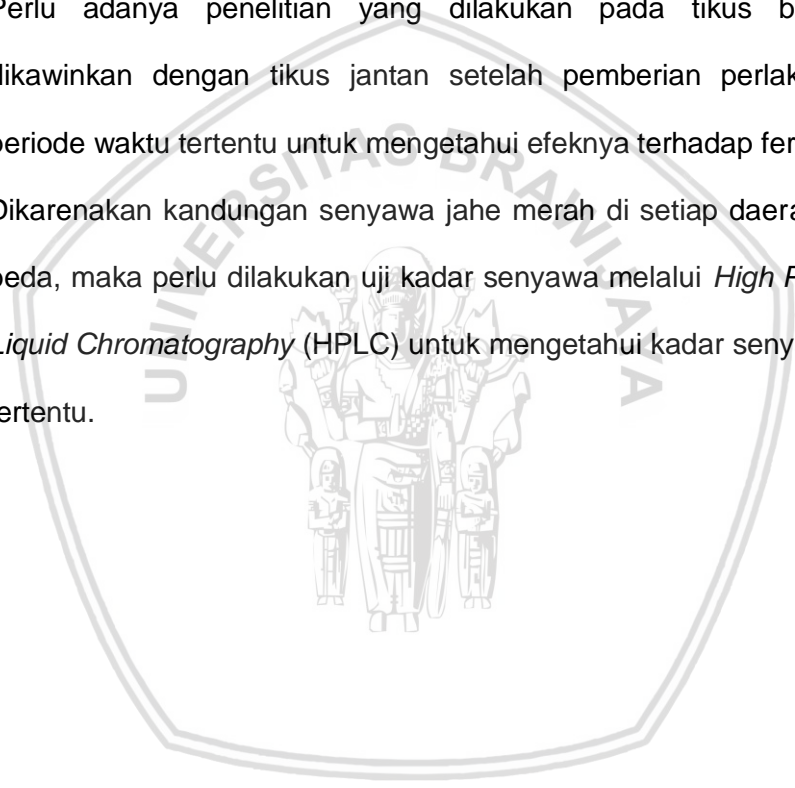
Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) terhadap lama siklus estrus tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar betina dewasa, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Lamanya siklus estrus normal tikus strain wistar betina dewasa adalah  $\pm$  4 hari.
2. Lamanya siklus estrus tikus strain wistar betina dewasa yang diberikan ekstrak etanol rimpang jahe merah adalah 4-5 hari.
3. Tidak ada perbedaan maupun hubungan yang signifikan pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah berbagai dosis terhadap lama siklus estrus tikus strain wistar betina dewasa.
4. Terdapat kecenderungan peningkatan lama siklus estrus pada pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah dosis tertinggi meskipun tidak terlalu bermakna secara statistik.

#### 7.2 Saran

Dalam pengembangan ilmu pengetahuan, perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan perbaikan metode dan penambahan variabel sebagai berikut:

1. Identifikasi fase estrus dilakukan lebih dari satu kali dalam sehari untuk melihat lamanya siklus estrus secara lebih mendetail dan tidak ada fase yang terlewat.
2. Pemberian ekstrak etanol rimpang jahe merah diberikan dalam periode waktu yang lebih lama untuk mengetahui efeknya terhadap perubahan lama siklus.
3. Perlu adanya penelitian yang dilakukan pada tikus betina yang dikawinkan dengan tikus jantan setelah pemberian perlakuan dalam periode waktu tertentu untuk mengetahui efeknya terhadap fertilitas.
4. Dikarenakan kandungan senyawa jahe merah di setiap daerah berbeda-beda, maka perlu dilakukan uji kadar senyawa melalui *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) untuk mengetahui kadar senyawa bioaktif tertentu.



## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A., Hakim E.H., Makmur L., 2009. *Ilmu Kimia dan Kegunaan: Tumbuh-Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid 1, Penerbit ITB, Bandung, hal. 20-23
- Akpantah A.O., Oremosu A., O' Noronha C.C., Ekanem, T.B., Okanlawon A.O. Effects of *Garcinia kola* Seed Extract on Ovulation, Oestrous Cycle and Foetal Development in Cyclic Female Sprague-Dawley Rats. *Phys Soc Nigeria*, 2005, 20 (1-2): 58-62.
- Armitage D., 2004. *Rattus norvegicus*. (Online), Animal Diversity Web, ([animaldiversity.org/accounts/Rattus\\_norvegicus](http://animaldiversity.org/accounts/Rattus_norvegicus), diakses 16 April 2017).
- Basavanthappa B.T., 2006. *Textbook of Midwifery and Reproductive Health Nursing*. Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd., New Delhi, p. 40-43.
- Bermawie N., Purwiyanti S., 2011. *Jahe: Botani, Sistematika, dan Keragaman Kultivar Jahe*. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor.
- BPS, 2013. *Sensus Penduduk tahun 2013*. (Online), Badan Pusat Statistik Indonesia, ([bps.go.id](http://bps.go.id)).
- Breemen R.B., Tao Y., Li W. Cyclooxygenase-2 inhibitors in gingers (*Zingiber officinale*). *Fitoterapia*, 2011, 82: 38-43.
- Byers S.L., Wiles M.V., Dunn S.L., Taft R.A. Mouse Estrous Cycle Identification Tool and Images. *PLoS ONE*, 2012, 7(4): e35538.
- Cora M.C., Kooistra L., Travlos G. Vaginal cytology of the laboratory rat and mouse: review and criteria for the staging of the estrous cycle using stained vaginal smears. *Toxicologic Pathology*, 2015, 43: 776-793.
- Cuervo-Arango J., Beg M.A., Ginther O.J. Follicle and systemic hormone interrelationships during induction of luteinized unruptured follicles with a prostaglandin inhibitor in mares. *Theriogenology*, 2011, 76: 361-373.
- Cunningham F.G., Leveno K.J., Bloom S.L., Spong C.Y., 2009. *Williams Obstetrics*, 23<sup>th</sup> Ed., The McGraw-Hill Companies, USA, p. 38-45.
- Daniels K., Mosher W.D., Jones J. 2013. Contraceptive Methods Women Have Ever Used: United States, 1982-2010. *National Health Statistics Reports*. No. 62. Centers for Diseases Control and Prevention.

- Depkes RI. 2017. Hari Kependudukan Dunia 2017: Masa Depan Demografi Indonesia dan Keseimbangan Pertumbuhan Penduduk. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (Online), ([www.depkes.go.id](http://www.depkes.go.id)).
- Dugasani S., Picchika M.R., Nadarajah V.D., Balijepalli M.K., Tandra S., Korlakunta J.N. Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol. *Journal of Ethnopharmacology*, 2010, 127: 515-520.
- Gastal E.L., Bergfelt D.R., Nogueira G.P., Gastal M.O., Ginther O.J. Role of luteinizing hormone in follicle deviation based on manipulating progesterone concentrations in mares. *Biol Reprod*, 1999, 61:1492– 8.
- Gaytán E., Trradas E., Morales C., Bellido C., Sanchez-Criado J. Morphological evidence for uncontrolled proteolytic activity during the ovulatory process in indomethacin-treated rats. *Reprod*, 2002, 123: 639-649.
- Gaytán F., Bellido C., Gaytán M., Morales C., Sanchez-Criado, J.E. Differential Effects of RU486 and Indometachin on Follicle Rupture During the Ovulatory Process in the Rat. *Biology of Reproduction*, 2003, 69: 99-105.
- Ghasemzadeh A., Jaafar H.Z.E., Rahmat A. Changes in antioxidant and antibacterial activities as well as phytochemical constituents associated with ginger storage and polyphenol oxidase activity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 16: 382.
- Goldman J.M., Murr A.S. Cooper R.L. The Rodent Estrous Cycle: Characterization of Vaginal Cytology and Its Utility in Toxicological Studies. *Birth Defects Research*, 2007, 80: 84-97.
- Han Y., Song C., Koh W., Yon G.H., Kim Y.S., Riu S.Y., *et al.* Anti-inflammatory effects of the Zingiber officinale roscoe constituent 12-dehydrogingerdione in lipopolysaccharide-stimulated Raw 264,7 cells. *Phytother Res*, 2013, 27: 1200-1205.
- Harlis W.O. 2014. *Penuntun Praktikum Fisiologi Reproduksi Hewan*, Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo, Kendari.
- Hernani dan Christina, W. 2015. *Kandungan Bahan Aktif Jahe dan Pemanfaatannya dalam Bidang Kesehatan*. Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian, Bogor.
- Hernandez-Rey A.E. 2015. *Anovulation: Pathophysiology*. (Online), ([emedicine.medscape.com/article/253190-overview#a5](http://emedicine.medscape.com/article/253190-overview#a5), diakses 16 April 2017).

- Hoffman B.L., Schorge J.O., Schaffer J.I., Halvorson L.M., Bradshaw K.D., Cunningham F.G., 2012. *Williams Gynecology*, 2<sup>nd</sup> Ed., The McGraw-Hill Companies, USA.
- Hu J., Guo Z., Glasius M., Kristensen K., Xiao L., Xu X. Pressurized liquid extraction of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) with bioethanol: An efficient and sustainable approach. *Journal of Chromatography*, 2011, 1218: 5765-5773.
- Jacob A., 2012. *A Comprehensive Textbook of Midwifery and Gynecological Nursing*. Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi, p. 233-244.
- Johnson M.H., 2007. *Essential Reproduction*, 6<sup>th</sup> Ed., Wiley-Blackwell, New York, p. 316.
- Kashefi F., Marjan K., Mohammad A., Ibrahim G., Javad A. Effect of Ginger (*Zingiber officinale*) on Heavy Menstrual Bleeding: A Placebo-Controlled, Randomized Clinical Trial. *Phytother Res*, 2014, (Online), (wileyonlinelibrary.com).
- Kemendes RI. 2014. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 97 Tahun 2014*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Kemendes RI. 2016. *Profil Kesehatan Indonesia tahun 2015*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Londonkar R.L., Nayaka H.B. Effect of ethanol extract of *Portulaca oleracea* L on ovulation and estrous cycle in female albino rats. *J Phar*, 2013, 6: 431-436.
- Lestari. 2006. *Pengaruh nisbah rimpang dengan pelarut dan lama ekstraksi terhadap mutu oleoresin jahe merah*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Lestari, R. 2002. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale*) sebagai Analgesik dan Antiinflamasi pada Tikus (*Rattus norvegicus*) strain wistar*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.
- Lowdermilk D.L., Perry S.E., 2006. *Maternity Nursing*, 7<sup>th</sup> Ed., Elsevier, USA, p. 135-149.
- Manuaba, I.B.G., 2007. *Pengantar Kuliah Obstetri*, EGC, Jakarta, p. 82-84.
- Marcondes F.K., Bianchi F.J., Tanno A.P. Determination of the Estrous Cycle Phases of Rats: Some Helpful Considerations. *Braz J Biol*, 2002, 62 (4A): 609-614.
- Marks, F. and Fürstenberger, G., 1999. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Other Eicosanoids: From Biogenesis to Clinical Application*. Wiley-VCH, Toronto, p. 199-203.



- Myers P., Espinosa R., Parr C.S, Jones T., Hammond G.S., Dewey T.A., 2017. *Rattus norvegicus*. (Online), The Animal Diversity Web, (animaldiversity.org, diakses 16 April 2017).
- NTBG. 2017. *Zingiber officinale*. National Tropical Botanical Garden. (Online), ([http://ntbg.org/plants/plant\\_details.php?plantid=11651](http://ntbg.org/plants/plant_details.php?plantid=11651), diakses pada 20 Mei 2017).
- Ok S., Jeong W. Optimization of Extraction Conditions for the 6-Shogaol-rich Extract from Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Prev Nutr Food Sci*, 2012, 17: 166-171.
- Oryza. 2011. *Red Ginger Extract*. Oryza Oil & Fat Chemical Co. LTD, Tokyo.
- Paccola C.C., Resende C.G., Stumpp T., Miraglia S.M., Cipriano I. The rat estrous cycle revisited: a quantitative and qualitative analysis. *Anim Reprod*, 2013, 10(4): 677-683.
- Pairman S., Tracy S., Thorogood C., Pincombe J., 2010. *Midwifery: Preparation for Practice*. Churchill Livingstone, Australia, p. 706-707.
- Ricci S.S., 2013. *Essentials of Maternity, Newborn, & Women's Health Nursing*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. p. 85-92.
- Semwal R.B., Semwal D.K., Combrinck S., Viljoen A.M. Gingerols and shogaols: Important nutraceutical principles from ginger. *Phytochemistry*, 2015, 117: 554-56.
- Shimoda H., Shan S., Tanaka J., Seki A., Seo J.W., Kasajima N. Anti-inflammatory Properties of Red Ginger Extract and Suppression of Nitric Oxide Production by Its Constituents. *J Med Food*, 2010, 13: 156-162.
- Smith G., Roberts R., Hall C., Nuki G. Reversible Ovulatory Failure Associated with the Development of Luteinized Unruptured Follicles in Women with Inflammatory Arthritis Taking Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *British J of Rheumato*, 1996, 35: 458-462.
- Solimun. 2002. *Multivariate Analysis Structural Equation Modeling*. Universitas Negeri Malang, Malang.
- Sulistiyawati, A. 2011. *Pelayanan Keluarga Berencana*. Salemba Medika, Jakarta.
- Syarif R.A., Soejono S.K., Meiyanto E., Wahyuningsih M.S. Efek Kurkumin terhadap Sekresi Estrogen dan Ekspresi Reseptor Estrogen Beta Kultur Sel Granulosa Babi Folikel Sedang. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 2016, 29(1): 32-39.
- Tanaka K., Arita M., Sakurai H., Ono N., Tezuka Y. Analysis of Chemical Properties of Edible and Medicinal Ginger by Metabolomics Approach. *BioMed Research International*, 2015, 2015: 1-7.



UNFPA. 2011. *The State of World Population 2011*. United Nations Population Fund.

United Nations. 2016. *Sustainable Development Goals*. (Online), ([www.un.org](http://www.un.org)).

Vuori-Holopainen E., Makiperna A., Tiitinen A. Menorrhagia in adolescents: normal or a sign of underlying medical condition?. *Duodecim*, 2013 129: 2613-2620.

Yuhedi L.C., Kurniawati T., 2011. *Buku Ajar Kependudukan dan Pelayanan KB*. EGC, Jakarta, p. 48-80.

