

**EFEK EKSTRAK ETANOL JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)
TERHADAP TEBAL SEL OTOT POLOS TUBA FALOPPI PADA TIKUS PUTIH
STRAIN WISTAR BETINA (*Rattus norvegicus*)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh :

Anggun Pitaloka

NIM 145070600111014

PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	i
Lembar Pengesahan	ii
Lembar Pernyataan Keaslian Tulisan.	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak.	vi
Abstract.	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Gambar	xi
Daftar Tabel.....	xii
Daftar Lampiran.....	xiii
Daftar Singkatan.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	
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	4
1.4.1 Manfaat Akademis	4
1.4.2 Manfaat Praktisi.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Infertilitas	5
2.1.1 Pengertian	5
2.1.2 Faktor Penyebab Infertilitas	6
2.2 Ovulasi dan Inflamasi	7
2.2.1 Ovulasi	7
2.2.2 Perbedaan COX-1 dan COX-2	11
2.2.3 Inflamasi.....	13
2.3 Prostaglandin	14
2.4 Tuba Falopi	15
2.4.1 Histologi Tuba Falopi	15
2.4.2 Fisiologi Tuba Falopi	20
2.5 Sel	22
2.5.1 Adaptasi Sel	22
2.5.2 Atrofi Sel	23
2.6. Jahe Merah	25
2.6.1 Taksonomi dan Klasifikasi	26
2.6.2 Morfologi Tanaman.....	26
2.6.3 Kandungan Kimia	27
2.6.3.1 Kandungan Shogaol	29



2.6.3.2 Kandungan Flavonoid.....	30
2.7 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	32
2.7.1 Klasifikasi	33
2.7.2 Deskripsi Fisik	34
2.7.3 Reproduksi Tikus Betina	34
2.7.4 Siklus Reproduksi	35
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	40
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	41
3.3 Hipotesis Penelitian	43
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	44
4.2 Populasi Dan Sampel	44
4.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi	46
4.4 Variabel Penelitian.....	47
4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian	47
4.6 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian	47
4.7 Definisi Operasional	48
4.8 Prosedur Penelitian/ Pengumpulan Data	49
4.8.1 Persiapan dan Pemeliharaan Hewan Coba	49
4.8.2 Identifikasi Siklus Estrus Hewan Coba.....	50
4.8.3 Pembuatan Ekstrak Etanolik Rimpang Jahe Merah	51
4.8.4 Perlakuan Hewan Coba	52
4.8.5 Pengenceran Ekstrak Jahe Merah	53
4.8.6 Prosedur Pengambilan Organ	55
4.8.7 Pembuatan Preparat Histologi	56
4.8.8 Pengamatan Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Falopi	57
4.9 Diagram Alur Penelitian	58
4.10 Analisis Data	59
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	
5.1 Hasil Penelitian	60
5.1.1 Ketebalan Tuba Falopi	61
5.1.2 Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi	63
5.1.3 Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi pada Tikus Kontrol	64
5.1.4 Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi pada Kelompok Perlakuan Dosis 1 (PI)	64
5.1.5 Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi pada Kelompok Perlakuan Dosis 2 (PII)	65
5.1.6 Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi pada Kelompok Perlakuan Dosis 3 (PIII)	65
5.2 Analisis Data	67



5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas	67
5.2.2 Analisis One Way ANOVA.	68
BAB 6 PEMBAHASAN	
6.1 Ketebalan Lapisan Sel Otot Polos Tuba Falopi Tikus.	72
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1 Kesimpulan.	77
7.2 Saran.	77
DAFTAR PUSTAKA	79



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK EKSTRAK ETANOL JAHE MERAH (*Zingiber officinale var. rubrum*)
TERHADAP TEBAL SEL OTOT POLOS TUBA FALOPi PADA TIKUS PUTIH
STRAIN WISTAR BETINA (*Rattus norvegicus*)

Oleh:

Anggun Pitaloka

NIM 145070600111014

Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 23 April 2018

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

Dr. dr. Retty Ratnawati, M.Sc

NIP. 195502011985032001

Pembimbing-I/Penguji-II,

dr. Elly Mayangsari, M. Biomed

NIP. 198405162009122005

Pembimbing-II/Penguji-III,

dr. Anin Indriani, Sp. OG

NIP. 2016098007042001

Mengetahui,

Ketua Program Studi S1 Kebidanan,



Linda Ratna Wati, S.ST. M.Kes

NIP. 198409132014042001



ABSTRAK

Pitaloka, Anggun. 2018. ***Efek Ekstrak Etanol Jahe Merah (Zingiber officinale var. Rubrum) terhadap Tebal Sel Otot Polos Tuba Falopi pada Tikus Putih Strain Wistar Betina (Rattus norvegicus)***. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Elly Mayangsari, M.Biomed., (2) dr. Anin Indriani Sp. OG.

Salah satu gangguan kesehatan reproduksi yang terjadi pada usia subur adalah infertilitas. WHO memperkirakan sekitar 50-80 juta pasutri memiliki masalah infertilitas, dan setiap tahun muncul sekitar 2 juta pasangan infertil. Di Indonesia, pasangan infertil pada tahun 2013 mencapai 50 juta pasangan atau 15-20% dari seluruh pasangan yang ada. Masalah yang sering kali muncul biasanya dikarenakan adanya hambatan kontraktilitas pada tuba falopi. Kontraksi otot polos ini dipengaruhi oleh tiga sistem interstitial yaitu hormon estrogen-progesteron, sistem adrenergik-non adrenergik dan prostaglandin. Sebagai zat antiprostaglandin, kandungan yang ada pada tanaman jahe diperkirakan dapat menyebabkan penipisan sel otot polos tuba falopi. Penelitian ini menggunakan tikus putih *Rattus norvegicus* betina dengan usia 8-12 minggu dan berat 150-200 gram. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Patologi Anatomi FKUB. Penelitian dilakukan selama 3 siklus estrus yang terdiri dari 4 kelompok yaitu kelompok kontrol, perlakuan dosis 0.3 gram/KgBB (PI), perlakuan dosis 0.6 gr/KgBB (PII), dan perlakuan dosis 1.2 gram/KgBB (PIII). Pemberian ekstrak jahe merah dilakukan peroral dengan sonde selama 3 siklus estrus. Tikus dibedah pada fase estrus siklus estrus ke empat. Pengamatan ketebalan sel otot polos tuba falopi dilakukan oleh peneliti pada 4 titik. Hasil uji *One Way ANOVA*, rerata ketebalan otot polos tuba falopi ($p= 0,456$) pada kelompok yang diberi perlakuan dosis 1 (PI) dan dosis 2 (PII) memiliki kecenderungan penurunan meskipun tidak secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Namun pada kelompok perlakuan dosis 3 (PIII) tidak menunjukkan adanya penurunan ketebalan sel otot polos jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jahe merah memiliki kecenderungan untuk menurunkan ketebalan sel otot polos tuba falopi meskipun tidak signifikan.

Kata kunci: infertil, tuba falopi, prostaglandin, jahe merah

ABSTRACT

Pitaloka, Anggun. 2018. *The Effect of Red Ginger Ethanol Extract (Zingiber officinale var. Rubrum) on Thickness of Fallopian Tube Muscle Cells in Female White Rats of Strain Wistar (Rattus norvegicus)*. Final Assignment. Bachelor of Midwifery Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) dr. Elly Mayangsari, M.Biomed., (2) dr. Anin Indriani Sp.OG.

One of the reproductive health disorders that occur in child-bearing age is infertility. WHO estimates that about 50-80 million couples have infertility problems, and annually there are about 2 million infertile couples. In Indonesia, infertile couples in 2013 reach 50 million couples or 15-20% of all couples. Problems that often arise are usually due to the constraints of contractility in the fallopian tubes. Contraction of smooth muscle is influenced by three interstitial systems of estrogen-progesterone, adrenergic-non adrenergic and prostaglandin. As an antiprostaglandin substance, the content present in ginger plants is thought to lead to thinning of the smooth muscle cells of the fallopian tubes. This study used white rat *Rattus norvegicus* female with age 8-12 weeks and weight 150-200 gram. The research was conducted in Pharmacology and Pathology-Anatomy Laboratory of FKUB. The experiment was conducted for 3 estrus cycles consisting of 4 groups: control group, treatment group with dose 0.3 gram/KgBB (PI), treatment group with dose 0.6 gr/KgBB (PII), and treatment group with dose 1.2 gram/KgBB (PIII). The administration of red ginger extract was performed peroral with sonde for 3 estrous cycles. The rats were dissected at the estrous phase of the fourth estrus cycle. Observation of smooth muscle cell thickness of fallopian tubes was done by researchers at 4 points. One way ANOVA test result, mean thickness of tubal muscle of fallopian tube ($p = 0,456$) in group treated with dose 1 (PI) and dose 2 (PII) have decreasing trend although not significantly compared to control group. However, in the treatment group dose 3 (PIII) did not show a decrease in smooth muscle cell thickness when compared with the control group. The results of this study concluded that the administration of red ginger extract has a tendency to decrease the thickness of smooth muscle cells of fallopian tubes although not significant.

Keywords: infertile, fallopian tubes, prostaglandins, red ginger

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berkembang biak adalah salah satu fungsi luhur dari makhluk hidup, termasuk manusia. Seluruh makhluk hidup, termasuk manusia berkeinginan untuk menjaga kelangsungan garis keturunannya dengan cara berkembang biak (Ahsan *et al.*, 2012). Salah satu gangguan kesehatan reproduksi yang terjadi pada usia subur adalah infertilitas. Infertilitas adalah suatu kondisi dimana pasangan suami istri belum mampu memiliki anak walaupun telah melakukan hubungan seksual sebanyak 2-3 kali seminggu dalam kurun waktu 1 tahun dengan tanpa menggunakan alat kontrasepsi jenis apapun (Djuwantono *et al.*, 2008).

Pasangan suami istri yang mengalami gangguan kesuburan pada tingkat dunia mencapai 10-15%, dari jumlah tersebut 90% diketahui penyebabnya (Hadibroto, 2013). WHO memperkirakan sekitar 50-80 juta pasutri (1 dari 7 pasangan) memiliki masalah infertilitas, dan setiap tahun muncul sekitar 2 juta pasangan infertil (Triwani, 2013). Di Indonesia sendiri, pasangan infertil pada tahun 2013 mencapai 50 juta pasangan atau 15-20% dari seluruh pasangan yang ada (Risikesdas, 2013).

Untuk menjadi fertil dan hamil, wanita perlu memiliki siklus ovulasi yang teratur, ovumnya harus normal, tidak boleh ada hambatan dalam jalur lintasan ovum maupun sperma atau implantasi ovum yang telah dibuahi. Dimana bisa dikatakan bahwa untuk menjadi fertil, selain harus memiliki ovum dengan kualitas baik, maka seorang wanita juga harus memiliki organ reproduksi yang dalam

keadaan baik pula. Ketika terjadi masalah disalah satu organ reproduksi maka bisa menjadi salah satu penghambat untuk seseorang memiliki keturunan. Masalah yang sering kali muncul biasanya dikarenakan adanya hambatan dalam proses transportasi ovum yang akan menuju uterus, dalam hal ini yang memiliki peran adalah tuba falopi (Saifudin *et al.*, 2011).

Tuba falopi memiliki fungsi untuk menangkap ovum saat ovulasi, lalu mengantarkan ovum untuk bertemu dengan sperma sampai terjadinya konsepsi. Fungsi tersebut dipengaruhi oleh pergerakan epitel tuba oleh otot polos, jumlah epitel bersilia dan epitel sekretorik tuba (Lyons *et al.*, 2006). Dari ketiga aspek tersebut, yang paling berpengaruh dalam proses transportasi ovum adalah sel epitel otot polos tuba falopi, dimana otot polos akan menghasilkan gerakan peristaltik yang berfungsi untuk membantu perpindahan ovum menuju rahim. Kontraksi otot polos ini dipengaruhi oleh tiga sistem interstitial yaitu hormon estrogen-progesteron, sistem adrenergik-non adrenergik dan prostaglandin (El-Mowafi, 2012).

Rimpang jahe merah diyakini memiliki pengaruh dalam menurunkan kadar prostaglandin dalam tubuh, dimana biasanya tanaman ini berfungsi sebagai zat antiinflamasi. Jahe merah dikenal memiliki efek antiinflamasi dengan menurunkan kadar prostaglandin dengan komponen aktifnya, yaitu flavonoid dan shogaol akan menghambat prostaglandin dengan cara menghambat enzim siklooksigenase dan enzim lipooksigenase. Hal ini nantinya akan mengakibatkan penurunan kadar leukotrien dan prostaglandin yang merupakan mediator inflamasi (Narayana *et al.*, 2001). Selain sebagai zat antiinflamasi, kandungan yang ada pada tanaman jahe seperti flavonoid juga diperkirakan dapat menyebabkan penipisan sel otot polos tuba falopi dengan adanya penghambatan

pembentukan membran sel sehingga proses fisiologi membran menjadi terganggu yang akhirnya menyebabkan penipisan tebal sel otot polos tuba falopi (Amita, 2015).

Penurunan ketebalan sel otot polos tuba falopi disebabkan karena kontraksi yang berkurang. Bila otot tidak digunakan selama waktu yang lama maka kecepatan penghancuran protein kontraktile dan jumlah miofibril yang timbul akan berlangsung lebih cepat dari pada kecepatan penggantinya, sehingga otot mengalami atrofi. Bila suatu otot kehilangan suplai sarafnya, maka otot itu tidak lagi menerima sinyal kontraksi yang dibutuhkan untuk mempertahankan ukuran otot yang normal. Atrofi menggambarkan pengurangan komponen struktur sel, tetapi akhirnya mempengaruhi keseimbangan antara sintesis dan degradasi. Sintesis yang berkurang, peningkatan katabolisme, maupun keduanya akan menyebabkan atrofi (Kumar *et al.*, 2007).

Jika terjadi penipisan pada sel otot polos tuba falopi, maka akan menyebabkan pergerakan otot polos tuba falopi menjadi berkurang, dan pada akhirnya akan menghambat proses transportasi ovum menuju uterus. Dengan keterkaitan dari yang telah dipaparkan diatas, maka kami akan meneliti lebih lanjut apakah ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) yang mengandung zat antiinflamasi berupa flavonoid dan shogaol dapat mempengaruhi tebal sel otot polos tuba falopi. Sejauh ini belum ada penelitian mengenai efek ekstrak etanol jahe merah terhadap tebal sel otot polos tuba falopi. Oleh karena itu, kami akan melakukan penelitian lebih lanjut dengan hewan uji coba yaitu tikus putih strain wistar betina dewasa.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat efek ekstrak etanol jahe merah terhadap tebal sel otot polos tuba falopi pada tikus putih strain wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui apakah terdapat efek ekstrak etanol jahe merah terhadap tebal sel otot polos tuba falopi pada tikus putih strain wistar.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui perubahan ukuran tebal sel otot polos tuba falopi.
2. Untuk mengetahui jumlah dosis ekstrak jahe merah yang dapat menimbulkan perubahan tebal sel otot polos tuba falopi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Memberikan dasar ilmiah untuk penelitian lanjutan tentang efek ekstrak etanol jahe merah terhadap perubahan tebal sel otot polos tuba falopi tikus putih strain wistar.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi kepada masyarakat bahwasanya ada beberapa bahan-bahan alam disekitar kita, seperti tanaman jahe merah yang sekiranya memiliki potensidalam mempengaruhi fertilitas seseorang, sehingga perlu untuk diperhatikan lebih lanjut dalam penggunaannya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Infertilitas

2.1.1 Pengertian

Infertilitas merupakan kegagalan pasangan untuk mendapatkan kehamilan sekurang-kurangnya dalam kurun waktu 12 bulan berhubungan seksual secara teratur tanpa kontrasepsi, atau biasa disebut juga sebagai infertilitas primer. Infertilitas sekunder adalah ketidakmampuan seseorang untuk memiliki anak atau mempertahankan kehamilannya. Infertilitas yang tidak diketahui penyebabnya mengacu pada pasangan infertil yang telah menjalani pemeriksaan standar meliputi tes ovulasi, patensi tuba, dan analisis semen namun hasil yang didapatkan adalah normal (WHO, 2013; Missmer *et al.*, 2013; Kamath *et al.*, 2012).

Infertilitas merupakan kondisi yang umum ditemukan dan dapat disebabkan oleh faktor laki-laki, perempuan, maupun keduanya. Infertilitas dapat juga tidak diketahui penyebabnya, atau yang lebih dikenal dengan istilah infertilitas idiopatik. Masalah infertilitas dapat memberikan dampak besar bagi pasangan suami-istri yang mengalaminya, selain menyebabkan masalah medis, infertilitas juga dapat menyebabkan masalah ekonomi maupun psikologis. Secara garis besar, pasangan infertil akan menjalani proses panjang dari evaluasi dan pengobatan, dimana proses ini dapat menjadi beban fisik dan psikologis bagi pasangan infertil (Hestiantoro *et al.*, 2013).

2.1.2 Faktor Penyebab Infertilitas

Penyebab infertilitas secara umum dapat dibagi sebagai berikut:

1. Faktor perempuan

Fritz dan Speroff (2010) mengatakan bahwa penyebab infertilitas pada wanita dapat diklasifikasikan menjadi 3 kelompok, yaitu:

a. Gangguan ovulasi

Seperti SOPK, gangguan pada siklus haid, insufisiensi ovarium primer. Infertilitas yang disebabkan oleh gangguan ovulasi dapat diklasifikasikan berdasarkan siklus haid, yaitu amenore primer atau sekunder. Namun tidak semua pasien infertilitas dengan gangguan ovulasi memiliki gejala klinis amenorea, beberapa diantaranya menunjukkan gejala oligomenorea (Balen dan Jacobs, 2003).

b. Gangguan tuba dan pelvis

Kerusakan tuba dapat disebabkan oleh infeksi (Chlamidia, Gonorrhoea, TBC) maupun endometriosis. Endometriosis merupakan penyakit kronik yang umum dijumpai. Gejala yang sering ditemukan pada pasien dengan endometriosis adalah nyeri panggul, infertilitas dan ditemukan pembesaran pada adneksa. Dari studi yang telah dilakukan, endometriosis terdapat pada 25%-50% perempuan, dan 30% sampai 50% mengalami infertilitas. Hipotesis yang menjelaskan endometriosis dapat menyebabkan infertilitas atau penurunan fekunditas masih belum jelas, namun ada beberapa mekanisme pada endometriosis seperti terjadinya perlekatan dan distorsi anatomi panggul yang dapat mengakibatkan penurunan tingkat kesuburan. Perlekatan pelvis pada endometriosis dapat mengganggu pelepasan oosit dari ovarium serta menghambat penangkapan maupun transportasi oosit (Missmer *et al.*, 2012).

c. Gangguan uterus

Gangguan uterus, termasuk mioma submukosum, polip endometrium, leiomyomas, maupun sindrom asherman.

2. Faktor laki laki

Infertilitas dapat juga disebabkan oleh faktor laki-laki, dan setidaknya sebesar 30-40% dari infertilitas disebabkan oleh faktor laki-laki, sehingga pemeriksaan pada laki-laki penting dilakukan sebagai bagian dari pemeriksaan infertilitas. Fertilitas laki-laki dapat menurun akibat dari:

- a. Kelainan urogenital kongenital atau didapat
- b. Infeksi saluran urogenital
- c. Suhu skrotum yang meningkat (contohnya akibat dari varikokel)
- d. Kelainan endokrin
- e. Kelainan genetik
- f. Faktor imunologi (WHO, 2000).

2.2 Ovulasi dan Inflamasi

2.2.1 Ovulasi

Ovulasi pada wanita terjadi pada hari ke 14 dari siklus normal seksual 28 hari. Sesaat sebelum ovulasi, dinding luar folikel yang menonjol akan membengkak dengan cepat dan daerah kecil pada bagian tengah kapsul yang disebut stigma akan menonjol seperti puting. Dalam waktu 30 menit kemudian, cairan mulai mengalir dari folikel melalui stigma. Sekitar 2 menit kemudian folikel menjadi lebih kecil karena kehilangan cairannya, stigma akan robek cukup besar dan cairan yang lebih kental yang terdapat di bagian tengah folikel mengalami evaginasi. Cairan kental ini membawa ovum bersamanya yang dikelilingi oleh beratus-ratus sel granulosa kecil yang disebut korona radiata atau sel kumulus

(Anwar, 2005).

Pada proses terjadinya ovulasi diperlukan LH untuk pertumbuhan akhir dari folikel dan ovulasi. Tanpa hormon ini walaupun FSH tersedia dalam jumlah yang banyak, folikel ini tidak akan berkembang ke tahap ovulasi. Sekitar 2 hari sebelum ovulasi, sekresi LH oleh kelenjar hipofisis anterior meningkat dengan pesat menjadi 6 sampai 10 kali lipat dan mencapai puncaknya 16 jam sebelum ovulasi. Sedangkan FSH meningkat kira-kira 2 sampai 3 kali lipat pada saat bersamaan. Kedua hormon ini bekerja secara sinergis pada pembengkakan folikel yang berlangsung cepat selama beberapa hari sebelum ovulasi. LH juga mempunyai efek khusus terhadap sel granulosa dan sel theka, yang mengubah kedua sel tersebut menjadi lebih bersifat sel yang mensekresikan progesteron dan sedikit estrogen. Oleh karena itu, kecepatan sekresi estrogen mulai menurun kira-kira 1 hari sebelum ovulasi (Anwar, 2005).

LH pada proses ovulasi disekresikan dalam jumlah yang besar oleh kelenjar hipofisis anterior. Kemudian LH menyebabkan sekresi hormon-hormon steroid folikuler dengan cepat yang mengandung sejumlah kecil progesteron untuk pertama kalinya yang mana progesteron tersebut meningkatkan daya regang dinding folikel. Beberapa jam kemudian terjadi peristiwa-peristiwa yang diperlukan untuk terjadinya ovulasi. Pada peristiwa pertama, theka eksterna (kapsul folikel) melepaskan enzim proteolitik (kolagenase) dari lisozim yang mengakibatkan pelarutan dinding kapsul dan akibatnya yaitu melemahnya dinding, pembengkakan folikel dan degenerasi dari stigma. Pada saat bersamaan terjadi juga peristiwa yang kedua yang mana pada peristiwa ini terjadinya pertumbuhan pembuluh darah baru yang berlangsung cepat ke dalam dinding folikel. Dengan adanya pembuluh darah baru maka akan merangsang

peningkatan prostaglandin (PGE₂). Selain itu, dengan adanya pembuluh darah baru pada folikel akan menyebabkan peningkatan permeabilitas vaskular yang akan menyebabkan edema pada jaringan folikel sekitarnya dan dapat juga meningkatkan plasminogen. Dengan adanya progesteron dan prostaglandin (E dan F) akan memicu terbentuknya aktivator plasminogen yang nantinya berperan dalam perubahan plasminogen menjadi plasmin. Kemudian plasmin tersebut akan masuk ke dalam folikel. Di dalam folikel, plasmin akan merubah kolagenase yang tidak aktif menjadi aktif yang mana akan melemahkan kolagen dari tunika albuginea dan lapisan theka. Selain itu, plasmin akan merangsang sel granulosa untuk menghasilkan cairan folikuler sehingga terjadi pembengkakan folikel. Pada saat yang bersamaan terjadi degenerasi stigma dengan terlihat adanya desakan keluar dan dinding semakin lemah. Dengan adanya pembengkakan folikel dan degenerasi stigma mengakibatkan pecahnya folikel yang disertai dengan pengeluaran ovum (DeCherney dan Pernoll, 1994; Barnes dan Rosenfield, 1997).

Ketika folikel pecah, membran sel mengalami kerusakan yang menyebabkan enzim fosfolipase aktif dan mengubah fosfolipida menjadi asam arakhidonat, kemudian untuk sebagian diubah oleh enzim siklooksigenase menjadi asam endoperoksida dan seterusnya menjadi zat-zat prostaglandin. Bagian lain dari asam arakhidonat diubah oleh enzim lipooksigenase menjadi zat leukotrien. Baik prostaglandin maupun leukotrien bertanggungjawab bagi sebagian besar dari gejala peradangan (Wilmana dan Gans, 2007).

Cairan folikel pada manusia mengandung PGF-2 α , 6-keto-PGF-1 α , PGE-2, tromboxan B-2 (TXB-2), leukotrien B-4 (LTB-4), dan leukotrien C-4 (LTC-4). Konsentrasi PGF-2 α 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 yang sangat penting dalam ovulasi. Gonadotropin dapat dengan cepat menginduksi produksi prostaglandin secara *in-vitro*. Oleh karena itu, kenaikan LH pada fase folikuler mungkin bertanggung jawab atas stimulasi produksi prostaglandin ovarium. Berbeda dengan sistem yang lain, kenaikan prostaglandin ini tidak disebabkan oleh peningkatan ketersediaan asam arakhidonat dari membran fosfolid, namun dengan meningkatnya aktivitas siklooksigenase (COX). Peningkatan aktivitas COX ini membutuhkan RNA dan sintesis protein. Hal ini juga diketahui bahwa inhibitor dari COX dapat menghambat atau menunda ovulasi yang dapat dikembalikan dengan memberikan PGF-2 α . COX-2 diinduksi sesaat sebelum folikel ruptur dan hal itu dapat menyebabkan peningkatan fungsi prostaglandin yang menyertai atau menyebabkan rupturnya folikel. Induksi COX-2 sebelum ovulasi yang lebih awal bahkan telah dipertimbangkan sebagai penentu molekuler dari ovulasi. Hipotesis ini selanjutnya didukung oleh percobaan baru-baru ini dengan tikus yang mengalami delesi gen COX-2 dan gagal mengalami ovulasi (Marks dan Furstenberger, 1999).

Mengenai produk jalur lipooksigenase, terdapat beberapa penelitian yang menyelidiki peran produk metabolisme jalur lipooksigenase dalam maturasi dan pecahnya folikel. Aktivitas lipooksigenase (LOX) meningkat beberapa saat sebelum ovulasi. Inhibitor lipooksigenase dapat menghambat ovulasi dengan baik atau menghambat peningkatan produksi prostaglandin dan tingkat ovulasi. Sintesis LTB-4 meningkat dengan cepat setelah pemberian human chorionic gonadotropin (hCG), dan mencapai puncaknya sebelum PGE-2 dan PGF-2 α mencapai puncaknya dan dapat menyebabkan kemotaksis dari leukosit dan

kemudian merangsang pelepasan lisozim. LTB-4 dan LTC-4 meningkat selama periode ovulasi dan inhibitor dari reseptor LTB-4 ini dapat menghambat terjadinya ovulasi (Knight, 2014).

2.2.2 Perbedaan Enzim COX-1 dan COX-2

Perbedaan COX-1 dan COX-2 terletak pada ekspresi dan pola induksinya. Pada kondisi fisiologis, ekspresi COX-1 ditemukan pada semua jaringan, sedangkan COX-2 hanya terbatas pada ginjal, otak, testis, dan sel epitel trakea. Meskipun ekspresi COX-1 dominan pada usus, COX-2 juga ditemukan dalam jumlah tertentu pada permukaan sel mukosa tikus dan dalam usus manusia. Enzim COX menunjukkan pola induksi yang berbeda. COX-2 dapat meningkat 20 kali lipat pada makrofag, monosit, sinoviosit, kondrosit, fibroblast, dan sel endotel dengan berbagai stimulus selama proses inflamasi. Sebaliknya, aktifitas COX-1 tidak terpengaruh atau meningkat secara marginal saja (2 sampai 4 kali lipat) (Brooks *et al.*, 1999).

Lokasi dan pola ekspresi kedua isoform tersebut menunjukkan bahwa COX-1 bertanggung jawab atas produksi prostaglandin yang penting terhadap respon autokrin/parakrin terhadap hormon dan pemeliharaan integritas mukosa lambung dan fungsi trombosit, sedangkan COX-2 bertanggung jawab atas biosintesis prostaglandin inflamasi. COX-2 juga mempunyai peran fisiologis pada jaringan tertentu. Prostaglandin yang diproduksi oleh COX-2 mungkin terlibat dalam pemberian sinyal di otak, perfusi ginjal dan hemodinamik glomerulus, fungsi uterus dan ovarium, respon terhadap tegangan geser pada pembuluh darah, dan fisiologi pada membran embrio (Brooks *et al.*, 1999).

Tabel 2.1 Struktur, Distribusi, dan Regulasi dari COX-1 dan COX-2(Brooks et al., 1999)

	COX-1	COX-2
cDNA	Kromosom 9; 22 kB	Kromosom 1; 8,3 kB
mRNA	2,8 Kb	4,5 kB
Protein	72 kDa; 599 asam amino	72 kDa; 604 asam amino
Homolog	Asam amino; 90% jenis diantaranya untuk kedua isoform; nilsi V_{maks} dan K_m untuk asam arakidonat	
Perbedaan	Glukokortikoid menghambat ekspresi dari COX-2, tidak pada COX-1; sisi aktif COX-2 lebih besar dari COX-1	
Regulasi	Dominan konstitutif. Dominan diinduksi (10-20 kali Meningkatkan 2-4 kali lipat oleh stimulus inflamasi)	
Terekspresi pada jaringan	Mayoritas jaringan, terutama trombosit, perut, dan ginjal	Diinduksi oleh stimulus inflamasi dan mitogen pada makrofag/monosit, sinoviosit, kondrosit, fibroblast, sel endotel. Diinduksi oleh hormon pada ovarium dan membran janin. Konstitutif pada sistem saraf pusat, ginjal, testis, sel epitel trakea.

2.2.3 Inflamasi

Inflamasi adalah reaksi kompleks dalam jaringan ikat vaskular yang terjadi karena adanya rangsang eksogen dan endogen. Peradangan adalah respon normal, pelindung terhadap cedera jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, bahan kimia berbahaya atau agen mikrobiologis (Sen *et al.*, 2010).

Empat tanda kardinal, yaitu: kalor, rubor, tumor, dan *functiolaesa* yang berfungsi sebagai pemandu suatu respon inflamasi. Penyebab dari tanda-tanda inflamasi ini yaitu:

- a. Kalor (panas) yang disebabkan oleh pengumpulan darah yang bertambah dan dapat juga disebabkan oleh pirogen (substansi yang menyebabkan demam) yang mengganggu pusat pengaturan panas pada hipotalamus.
- b. Dolor (nyeri) disebabkan karena pembengkakan dan pelepasan mediator-mediator kimia.
- c. Rubor (merah) disebabkan kemerahan yang terjadi pada tahap pertama dari inflamasi. Darah berkumpul pada daerah cedera jaringan akibat pelepasan mediator kimia tubuh (kinin, prostaglandin, dan histamin).
- d. Tumor (bengkak/edema) merupakan tahap kedua dari inflamasi. Plasma merembes ke dalam jaringan interstitial pada tempat cedera.
- e. *Functiolaesa* (gangguan fungsi) disebabkan karena penumpukan cairan pada tempat cedera jaringan dan area rasa nyeri, yang mengurangi mobilitas pada daerah yang terkena.

Inflamasi terdiri 3 fase, yaitu inflamasi akut, respon imun, dan inflamasi kronis (Furst dan Munster, 2002). Inflamasi akut adalah respon yang cepat dikarenakan adanya jejas sehingga mengakibatkan pengiriman berbagai mediator pertahanan tubuh, misalnya menyebabkan perilsan autocoid seperti

histamin, serotonin, bradikinin, leukotrien, dan prostaglandin. Fase respon bisa terjadi apabila komponen-komponen dari sel imun ikut teraktivasi selama inflamasi akut berlangsung, respon imun ini akan berefek baik dan menguntungkan apabila penyebab respon imun dimakan dan dinetralisir. Sebaliknya respon imun akan berbahaya jika inflamasi berarah ke inflamasi kronik (Katzung, 2002).

Proses inflamasi dimulai dari stimulus yang akan mengakibatkan kerusakan sel, sebagai reaksi terhadap kerusakan sel maka sel tersebut akan melepaskan beberapa fosfolipid yang diantaranya adalah asam arakhidonat. Setelah asam arakhidonat tersebut bebas akan diaktifkan oleh beberapa enzim, diantaranya siklooksigenase dan lipooksigenase. Enzim tersebut merubah asam arakhidonat ke dalam bentuk yang tidak stabil (hidroperoksid dan endoperoksid) yang selanjutnya dimetabolisme menjadi leukotrin, prostaglandin, prostasiklin, dan tromboksan. Bagian prostaglandin dan leukotrin bertanggung jawab terhadap gejala-gejala peradangan (Katzung, 2002).

2.3 Prostaglandin

Prostaglandin merupakan salah satu mediator yang paling banyak berperan dalam proses inflamasi. Prostaglandin disintesis di membran sel. Fosfolipase pada membran sel diaktifkan oleh rangsang mekanik, kimia, fisik, atau mediator inflamasi seperti C5a, kemudian dilepaskan asam arakhidonat dari fosfolipid tersebut. Lalu asam arakhidonat akan dimetabolisme melalui dua jalur utama yaitu lipooksigenase dan siklooksigenase (Mcmahon dan Koltzenburg, 2006).

Enzim siklooksigenase mengubah asam arakhidonat menjadi endoperoksida yang aktif secara biologi dan bermasa hidup singkat. Senyawa ini

cepat diubah menjadi prostaglandin dan tromboksan. Jalur siklooksigenase menghasilkan prostasiklin, tromboksan, dan prostaglandin D₂, E₂, dan F₂. Prostasiklin menyebabkan vasodilatasi dan menghambat agregasi platelet, tromboksan menyebabkan vasokonstriksi dan meningkatkan agregasi platelet, sedangkan prostaglandin D₂, E₂ dan F₂ menyebabkan vasodilatasi dan meningkatkan terjadinya edema (Kumar *et al.*, 2007).

Lipooksigenase mengubah asam arakhidonat menjadi leukotrien. Leukotrien mempunyai efek kemotaksis yang kuat pada eosinofil, neutrofil, dan makrofag, serta meningkatkan bronkokonstriksi dan perubahan perubahan dalam permeabilitas pembuluh darah. Anion superoksida dibentuk melalui reduksi dari oksigen molekular yang bisa merangsang produksi molekul reaktif lain seperti hidrogenperoksida dan radikal hidroksil. Interaksi senyawa ini dengan asam arakhidonat menghasilkan pembentukan substansi substansi kemotaksin, selanjutnya secara berkesinambungan meneruskan proses inflamasi (Katzung, 2002).

2.4 Tuba falopi

2.4.1 Histologi Tuba falopi

Ovarium dihubungkan dengan tubular atau tuba falopi (seromuskular) yang bentuknya seperti tabung, pada manusia masing-masing panjangnya kurang lebih 10 mm dengan diameter bervariasi pada setiap bagian tuba, yaitu pars interstitialis 1 mm, pars istmika tuba 2,5 mm sedangkan pars ampula serta pars infundibulum dengan fimbriae masing masing 6 mm. Dinding tuba terdiri dari 3 lapisan yaitu mukosa, muskularis, dan serosa (Umami, 2014).

Tuba falopi memiliki fungsi untuk menangkap ovum saat ovulasi, lalu mengantarkan ovum untuk bertemu dengan sperma sampai terjadinya konsepsi.

Fungsi tersebut dipengaruhi oleh pergerakan epitel tuba oleh otot polos, jumlah epitel bersilia dan epitel sekretorik tuba (Lyons *et al.*, 2006). Dalam Yesdelita (2010) menyebutkan bahwa sekresi oleh uterus akan menyebabkan sperma bertahan dengan baik di dalam tuba dan memungkinkan akan mengalami kapasitas yaitu suatu proses biokimiawi yang sangat kompleks untuk membuahi oosit.

Lapisan pertama adalah mukosa, pada lapisan ini terdapat beberapa jenis sel yang berbeda yaitu sel epitel silindris bersilia (25%), sel sekretorik (60%), dan sel peg narrow (<10%). Mukosa ini memiliki banyak lipatan yang disebut plicae, paling banyak terdapat dalam ampula. Pada lapisan mukosa terdapat dua macam sel epitel yang berbeda, yaitu sel yang memiliki silia yang aktif bergetar menjelang oosit lewat, tipe sel ini menjamin kelancaran transport oosit embrio menuju uterus, yang kedua adalah sel tanpa silia banyak mengandung butir sekret/cairan didalamnya, diduga menghasilkan sekret yang bersifat nutritif bagi embrio, aktivitas epitel ini ternyata sejalan dengan aktivitas seluruh saluran reproduksi meskipun tidak sebaik uterus. Sel silia yang berada di sekitar fimbriae perlu untuk mengayunkan oosit agar masuk tuba, sedangkan sel silia yang berada dekat muaranya ke uterus berfungsi untuk mengayunkan spermatozoa agar bergerak ke infundibulum. Sedangkan getahan perlu sebagai media bagi oosit (Yatim, 1996).

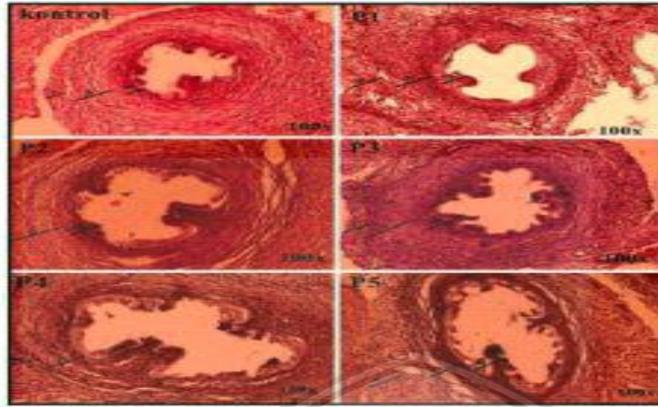
Lamina propria terdiri atas jaringan ikat longgar dengan banyak sel dan serabut retikular. Serabut otot polos sering tampak di dalamnya. Sub mukosa terdiri dari jaringan ikat longgar berbatasan langsung dengan mukosa, selama fase proestrus awal, sel epitel bersilia mengalami hipertrofi dan terjadi peningkatan aktivitas pada sel epitel sekretorik, sel epitel ini menunjukkan

perubahan berdasarkan siklus folikuler sesuai fasenya yaitu akan terlihat tinggi selama fase folikuler karena kadar estrogen darah tinggi dan menjadi rendah saat luteal akhir. Sel sekretorik tuba yang berisi cairan nutritif banyak mengandung mukoprotein, elektrolit, dan enzim yang diduga berasal dari transudasi selektif darah dan sekresi aktif dari lapisan epitel, cairan tersebut akan meningkat pada saat fase proestrus (El-Mowafi, 2012). Berdasarkan Aviles *et al.* (2010), cairan sekretorik tuba falopi adalah berupa cairan kompleks yang berasal dari sel epitel dan plasma darah, cairan tersebut mengandung banyak komponen metabolik yaitu glukosa, laktat, piruvat, dan asam amino dalam konsentrasi yang berbeda-beda pada masing-masing orang. Cairan tersebut sangat berguna untuk perkembangan embrio pada saat fase sekresi pada siklus estrus, sel epitel tuba falopi melepaskan beberapa biomolekul ke dalam lumen untuk meningkatkan perkembangan embrio yang diatur oleh hormon steroid oleh sel-sel gamet.

Sel-sel sekretori pada bagian epitel tuba falopi mensekresikan glycoconjugate dan setiap spesies hewan memperlihatkan adanya perbedaan dari jenis glycoconjugate yang dihasilkan. Glycoconjugate yang disekresikan oleh sel epitel tuba falopi bersifat spesies spesifik yang dapat memperantarai ikatan antara spermatozoa dengan zona pelusida. Sel sekretorik tuba yang berisi cairan nutritif banyak mengandung mukoproteins, elektrolit dan enzim yang diduga berasal dari transudasi selektif darah dan sekresi aktif dari lapisan epitel, cairan tersebut akan meningkat pada saat fase proestrus (Umami *et al.*, 2014).

Sel epitel sekretorik berperan secara maksimal saat ovulasi untuk memungkinkan terjadinya konsepsi yang sangat bergantung pada kadar estrogen. Sel epitel tergantung pada kadar estrogen, kadarnya akan meningkat menjelang pra-ovulasi, pada saat itulah ukuran sel epitel bersilia dan sekretorik

dalam ukuran yang sama. (Umami *et al.*, 2014).



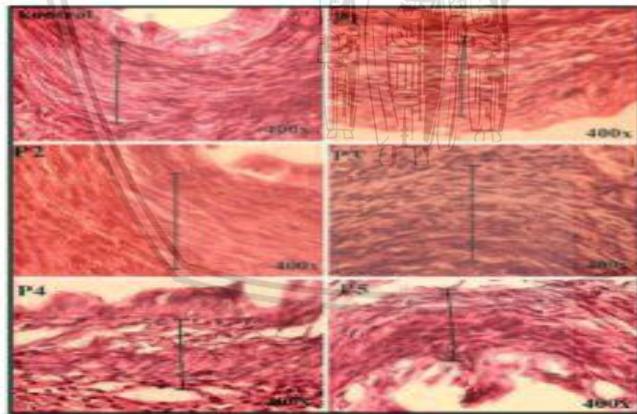
Gambar 2.1 Irisan Melintang Tuba falopi yang Memperlihatkan Ketebalan Lapisan Mukosa Tuba falopi pada Perbesaran 10x10 yang Diberi Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas dalam Berbagai Dosis (Amita, 2015)

Berdasarkan Gambar 2.1 yang menunjukkan hasil pengamatan secara histologi terhadap tebal mukosa tuba falopi dapat diketahui bahwa pada perlakuan ke-1 (P1) dosis 25 mg/Kg BB sampai pada perlakuan ke-3 (P3) dosis 75 mg/Kg BB memiliki lapisan mukosa yang tersusun oleh sel epitel yang rapat. Sedangkan pada perlakuan ke-4 (P4) dosis 125 mg/Kg BB dan perlakuan ke-5 (P5) dosis 200 mg/Kg BB lapisan mukosanya terlihat lebih tipis dari perlakuan sebelumnya.

Lapisan kedua adalah muskularis, yang merupakan lapisan otot polos yang mengelilingi mukosa, keduanya dibatasi oleh lapisan jaringan ikat yang sangat tipis yaitu otot polos sirkuler sebelah dalam dan otot polos longitudinal sebelah luar, lapisan otot polos ini akan semakin menebal pada tuba yang menuju uterus, kontraksi otot polos ini akan menghasilkan gerakan peristaltik yang berfungsi untuk membantu perpindahan ovum menuju rahim, diantara keduanya terdapat jaringan ikat yang mengandung pembuluh darah yang dikenal sebagai stratum vasculare, pada bibir infundibulum atau fimbriae otot polos

hampir tidak tampak atau hanya soliter. Semakin menuju uterus lapisan otot polos semakin jelas bahkan membentuk dua lapis yang berbeda susunannya, tunika muskularis dengan gerakan peristaltiknya bertugas mendorong oosit atau embrio menuju uterus. Gerakan peristaltik ini dipengaruhi oleh tiga sistem interstitial yaitu hormon estrogen-progesteron, sistem adrenergik-non adrenergik dan prostaglandin. Hormon estrogen dapat merangsang motilitas tuba sedangkan hormon progesteron menghambat motilitas tuba (El-Mowafi, 2012).

Selama fase proestrus, tuba falopi sangat peka terhadap senyawa alfa-adrenergik seperti nor-ephinephrin dimana senyawa ini bersifat mengaktivasi estrogen sehingga dapat terjadi pembuahan dengan baik, sedangkan peran dari prostaglandin adalah regulasi motilitas tuba secara spontan (Umami, 2014). Lapisan otot polos menyebabkan tuba mampu bergerak. Pada waktu akan mendekati ovulasi tuba aktif bergerak berirama mendekati ovarium (Yatim, 1996).



Gambar 2.2 Irisan Melintang Tuba falopi yang Memperlihatkan Ketebalan Lapisan Muskularis Otot Polos Tuba falopi pada Perbesaran 40x10 yang Diberi Ekstrak Daun Pegagan dan Beluntas dalam Berbagai Dosis (Amita, 2015)

Berdasarkan Gambar 2.2 yang menunjukkan hasil pengamatan dari struktur histologi otot polos tuba falopi yang dilakukan oleh Amita pada tahun 2015 mengenai pengaruh pemberian kombinasi ekstrak daun pegagan dan

beluntas yang mengandung flavonoid, dapat diketahui bahwa pada kelompok kontrol sampai pada perlakuan ke-3 (P3) dosis 125 mg/Kg BB memiliki lapisan otot polos yang tersusun secara teratur dan sel-selnya terlihat tersusun secara rapat, sedangkan pada perlakuan ke-4 (P4) dosis 125 mg/Kg BB dan perlakuan ke-5 (P5) dosis 200 mg/Kg BB lapisan otot polosnya terlihat tersusun renggang.

Lapisan ketiga adalah serosa sebagai lapisan terluar atau tersusun dari selaput peritoneum yang terdiri dari jaringan ikat (Almeida, 2001). Dalam Tirtayasa (2011), lapisan serosa terdiri dari mesothelium dan subserosa, lapisan ini merupakan lapisan terluar dari tuba yang berhubungan dengan alat penggantung tuba uterina atau ligamentum mesosalpinx.

2.4.2 Fisiologi Tuba falopi

Tuba falopi berfungsi membawa sperma dan telur ke tempat terjadinya fertilisasi di dalam tuba dan mengembalikan zigot yang telah dibuahi ke dalam rongga uterus untuk proses implantasi (Heffner dan Schust, 2006). Tuba falopi memiliki fungsi menangkap ovum saat ovulasi, lalu mengantarkan ovum untuk bertemu dengan sperma sampai terjadinya konsepsi. Fungsi tersebut dipengaruhi oleh otot polos, jumlah epitel bersilia dan epitel sekretorik (Umami *et al.*, 2014).

Tiga komponen tersebut dianggap sebagai efektor mekanik transportasi tuba falopi, pada otot polos ternyata ada reseptor estradiol dan progesteron yang berfungsi untuk kontraksi dan relaksasi otot polos. Otot polos tuba dibawah kendali sistem saraf simpatis, otot tuba merespon estrogen untuk menstimulasi kontraksi otot dan progesteron dan berefek relaksasi (Umami *et al.*, 2014).

Sel sekretorik tuba yang berisi cairan nutritif banyak mengandung mukoproteins, elektrolit dan enzim yang diduga berasal dari transudasi selektif

darah dan sekresi aktif dari lapisan epitel, cairan tersebut akan meningkat pada saat fase proestrus. Lapisan muskularis tuba falopi terdiri dari dua lapisan otot polos yaitu lapisan sirkuler bagian dalam dan lapisan longitudinal bagian luar. Kedua bagian otot ini bergerak peristaltik dan antiperistaltik. Gerak antiperistaltik jarang terjadi, walaupun terjadi ini biasanya kelainan dari tuba falopi. Kontraksi otot polos akan menghasilkan gerakan peristaltik yang berfungsi untuk membantu perpindahan ovum menuju rahim (Umami, 2014).

Ovum bergerak lambat dalam jangka setengah dari panjang tuba dekat ovarium, pada umumnya fertilisasi terjadi di tempat ini. Kemudian berjalan lebih cepat dalam setengah panjang tuba selebihnya untuk segera tiba di uterus. Fertilisasi tidak pernah terjadi di uterus (Partodihardjo, 1992).

Lapisan muskularis tuba falopi terdiri dari dua lapisan otot polos yaitu lapisan sirkuler bagian dalam dan longitudinal bagian luar, kontraksi otot polos akan menghasilkan gerakan peristaltik yang berfungsi untuk membantu perpindahan ovum menuju rahim (Umami, 2014). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Amita (2015), penipisan tebal lapisan otot polos tuba falopi dapat disebabkan karena adanya hambatan proliferasi sel dengan penghambatan pembentukan membran sel sehingga proses fisiologi membran menjadi terganggu yang akhirnya menyebabkan penipisan tebal sel otot polos tuba falopi. Sehingga jika terjadi penipisan tebal sel otot polos tuba falopi akan menyebabkan gangguan pada transportasi ovum ke uterus sehingga fertilisasi akan terhambat.

2.5 Sel

2.5.1 Adaptasi Sel

Sel merupakan partisipan aktif di lingkungannya, yang secara tetap menyesuaikan struktur dan fungsinya untuk mengakomodasi tuntutan perubahan dan stres ekstrasel. Sel cenderung mempertahankan lingkungan segera dan intraselnya dalam rentang parameter fisiologis (sel mempertahankan homeostatis normalnya). Ketika mengalami stres fisiologis atau rangsangan patologis, sel dapat beradaptasi, mencapai kondisi baru dan mempertahankan kelangsungan hidupnya. Respon adaptasi utama adalah atrofi, hipertrofi, hiperplasia dan metaplasia. Jika kemampuan adaptasi berlebihan, sel mengalami jejas. Dalam batas waktu tertentu, cedera bersifat reversible, dan sel kembali ke kondisi stabil semula, namun dengan stress berat atau menetap, akan terjadi cedera irreversible dan sel yang terkena mati (Kumar *et al.*, 2007).

Dalam keadaan normal, sel harus secara konstan beradaptasi terhadap perubahan di lingkungannya. Adaptasi fisiologi ini biasanya mewakili respons sel terhadap perangsangan normal oleh hormone atau mediator kimiawi endogen. Adaptasi patologik sering berbagi mekanisme dasar yang sama, tetapi memungkinkan sel untuk mengatur lingkungannya, dan idealnya melepaskan diri dari cedera. Jadi, adaptasi seluler merupakan keadaan yang berada diantara kondisi normal, sel yang tidak stres dan sel cedera yang stres berlebihan. Adaptasi selular dapat didahului oleh sejumlah mekanisme. Beberapa respon adaptif melibatkan *up regulation* dan *down regulation* reseptor selular spesifik. Perubahan adaptasi dalam pertumbuhan dan diferensiasi sel yang sangat penting dalam kondisi patologis termasuk diantaranya yaitu atrofi (pengurangan ukuran sel), hipertrofi (penambahan ukuran sel), hiperplasia (penambahan

jumlah sel), dan metaplasia (perubahan tipe sel) (Kumar *et al.*, 2007).

2.5.2 Atrofi Sel

Semua otot tubuh secara terus menerus dibentuk kembali untuk menyesuaikan fungsi-fungsi yang dibutuhkan oleh otot dan perubahan ini seringkali berlangsung cepat dalam waktu beberapa minggu. Bila massa total suatu otot menjadi menurun, maka proses tersebut disebut atrofi otot. Bila suatu otot tidak digunakan selama waktu yang lama maka kecepatan penghancuran protein kontraktile juga jumlah miofibril yang timbul akan berlangsung lebih cepat dari pada kecepatan penggantian, sehingga terjadi disuse atrofi otot (Kumar *et al.*, 2007). Bila suatu otot kehilangan suplai sarafnya, maka otot itu tidak lagi menerima sinyal kontraksi yang dibutuhkan untuk mempertahankan ukuran otot yang normal. Pada tahap akhir dari atrofi akibat denervasi, sebagian besar serat otot akan dirusak dan digantikan oleh jaringan fibrosa dan jaringan lemak (Kumar *et al.*, 2007).

Pengerutan ukuran sel dengan hilangnya substansi sel disebut atrofi. Apabila mengenai sel dalam jumlah yang banyak, seluruh jaringan atau organ berkurang massanya, menjadi atrofi. Meskipun dapat menurun fungsinya, sel yang mengalami atrofi tidak mati. Penyebab atrofi antara lain disebabkan karena beban kerja (imobilisasi anggota gerak), hilangnya persyarafan, berkurangnya suplai darah, nutrisi yang tidak adekuat, hilangnya rangsangan endokrin, maupun penuaan. Walaupun beberapa rangsang ini bersifat fisiologis dan patologis, perubahan selular yang mendasar bersifat identic. Perubahan tersebut menggambarkan kemunduran sel menjadi berukuran lebih kecil dan masih memungkinkan bertahan hidup (Kumar *et al.*, 2007).

Atrofi menggambarkan pengurangan komponen struktur sel, tetapi akhirnya mempengaruhi keseimbangan antara sintesis dan degradasi. Sintesis yang berkurang, peningkatan katabolisme, maupun keduanya akan menyebabkan atrofi. Disuse atrofi merupakan tidak berkontraksinya serabut-serabut otot dalam jangka waktu yang cukup lama sehingga perlahan-lahan akan mengecil, dimana terjadi perubahan perbandingan antara serabut otot dan jaringan fibrosa. Semua otot tubuh secara terus menerus dibentuk kembali untuk menyesuaikan fungsi-fungsi yang dibutuhkan oleh otot dan perubahan ini seringkali berlangsung cepat dalam waktu beberapa minggu. Bila massa total suatu otot menjadi menurun, maka proses tersebut disebut atrofi otot. Bila suatu otot tidak digunakan selama waktu yang lama maka kecepatan penghancuran protein kontraktile juga jumlah miofibril yang timbul akan berlangsung lebih cepat dari pada kecepatan penggantinya, sehingga terjadi disuse atrofi otot (Kumar *et al.*, 2007).

Timbul dan berakhirnya kontraksi otot terjadi dalam urutan tahap-tahap berikut ini:

- a. Suatu potensial aksi berjalan di sepanjang saraf motorik sampai ujung pada serat otot.
- b. Pada setiap ujung, saraf menyekresi substansi neurotransmitter yaitu Asetilkolin dalam jumlah sedikit.
- c. Asetilkolin bekerja pada area setempat pada membran serat otot untuk membuka banyak saluran gerbang asetilkolin melalui molekul-molekul protein dalam membran serat otot.
- d. Terbukanya saluran asetilkolin memungkinkan sejumlah besar ion natrium untuk mengalir ke bagian dalam membran serat otot pada titik terminal saraf

sehingga menimbulkan potensial aksi dalam serat otot.

- e. Potensial aksi akan berjalan di sepanjang membran serat otot dalam cara yang sama.
- f. Potensial aksi akan menimbulkan depolarisasi membran serat otot dan berjalan secara dalam di dalam serat otot.
- g. Ion-ion kalsium menimbulkan kekuatan menari antara filamen aktin dan miosin yang menyebabkan bergerak secara bersama-sama dan menghasilkan proses kontraksi.
- h. Setelah kurang dari satu detik, ion kalsium dipompa kembali ke dalam retikulum sarkoplasma sampai potensial aksi otot yang baru datang lagi (Kumar *et al.*, 2007).

2.6 Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)

Jahe (*Zingiber officinale*) merupakan tanaman obat berupa tumbuhan rumpun berbatang semu. Dalam kehidupan sehari-hari jahe sering digunakan sebagai bahan minuman, bumbu masakan dan obat-obat tradisional. Jahe termasuk dalam suku temu-temuan (*Zingiberaceae*), satu *family* dengan temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza*), temu hitam (*Curcuma aeruginosa*), kunyit (*Curcuma domestica*), kencur (*Kaempferia galanga*) dan lengkuas (*Languas galanga*). Nama daerah jahe antara lain haila (Aceh), beeuing (Gayo), bahing (Batak kuno), sipodeh (Minangkabau), jahi (Lampung), jahe (Sunda), jae (Jawa dan Bali), jhai (Madura), melito (Gorontalo), geraka (Ternate) (Paimin dan Murhananto, 2008; Mukhlisa, 2005).



Gambar 2.3 Jahe Merah (Paimin dan Murhananto, 2008)

2.6.1 Taksonomi dan Klasifikasi (Hapsoh dan Rahmawati, 2007)

Divisi : *Spermatophyta*

Sub divisi : *Angiospermae*

Kelas : *Monocotyledoneae*

Ordo : *Zingiberales*

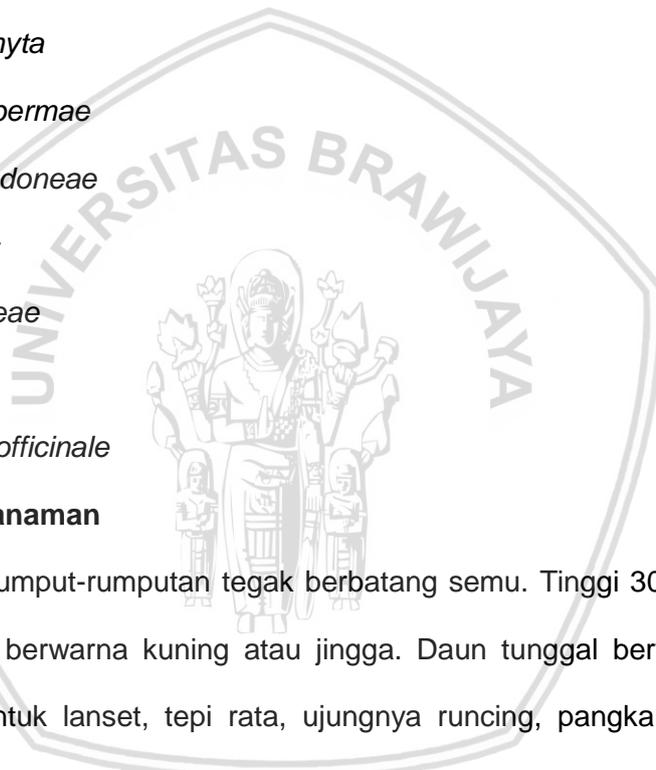
Famili : *Zingiberaceae*

Genus : *Zingiber*

Spesies : *Zingiber officinale*

2.6.2 Morfologi Tanaman

Tanaman rumput-rumputan tegak berbatang semu. Tinggi 30-75 cm, bila rimpang dipotong berwarna kuning atau jingga. Daun tunggal berwarna hijau, helai daun berbentuk lanset, tepi rata, ujungnya runcing, pangkalnya tumpul, panjang 15-23 cm dan lebar lebih kurang 2,5 cm. Perbungaan mulai tersembul dipermukaan tanah berbentuk tongkat atau bulat telur, panjang 3,5-5 cm, lebarnya 1,5-1,75 cm. Mahkota bunga berbentuk tabung berukuran 2-2,5 cm helainya agak sempit berbentuk tajam, berwarna kuning kehijauan, bibir berwarna ungu, berbintik-bintik berwarna putih kekuningan dan kepala sari berwarna ungu. Akarnya yang bercabang-cabang dan berbau harum berwarna kuning atau jingga dan berserat (Paimin dan Murhananto, 2008).



Berdasarkan ukuran, bentuk dan warna rimpang, jahe dibedakan menjadi tiga jenis, yaitu:

1. Jahe putih/kuning besar disebut juga jahe gajah atau jahe badak

Ditandai dengan ukuran rimpang yang besar dan gemuk, warna kuning muda atau kuning, berserat halus. Beraroma tetapi kurang tajam. Dikonsumsi baik sebagai jahe segar maupun olahan, sering juga dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan minuman (Paimin dan Murhananto, 2008).

2. Jahe kuning kecil disebut juga jahe sunti atau jahe emprit

Ditandai dengan ukuran rimpangnya yang sedang, bentuk agak pipih, berwarna putih, berserat lembut dan beraroma tajam (pedas). Memiliki kandungan minyak atsiri lebih banyak, sehingga jahe ini cocok untuk ramuan obat-obatan atau diekstrak oleoserin dan minyak atsirinya (Paimin dan Murhananto, 2008).

3. Jahe merah

Ditandai dengan ukuran rimpangnya yang lebih kecil, berwarna merah jingga, berserat kasar, beraroma tajam (pedas). Memiliki kandungan minyak atsiri yang sama dengan jahe kuning kecil, sehingga cocok untuk obat-obatan (Paimin dan Murhananto, 2008).

2.6.3 Kandungan Kimia

Menurut Ravindran dan Nirmala (2005), kandungan rimpang jahe terdiri dari 2 komponen, yakni:

a. Komponen volatil

Sebagian besar terdiri dari derivat seskuiterpen (>50%) dan monoterpen. Komponen inilah yang bertanggungjawab dalam aroma jahe, dengan konsentrasi yang cenderung konstan yakni 1-3%. Derivat seskuiterpen yang

terkandung diantaranya zingiberene (20-30%), ar-curcumene (6- 19%), β -sesquiphelandrene (7-12%) dan β -bisabolene (5-12%). Sedangkan derivat monoterpen yang terkandung diantaranya α -pinene, bornyl asetat, borneol, camphene, p -cymene, cineol, citral, cumene, β -elemene, farnesene, β -phelandrene, geraniol, limonene, linalol, myrcene, β -pinene dan sabinene.

b. Komponen nonvolatil

Terdiri dari oleoresin (4,0-7,5%). Ketika rimpang jahe diekstraksi dengan pelarut, maka akan didapatkan elemen pedas, elemen non- pedas, serta minyak esensial lainnya. Elemen-elemen tersebut bertanggungjawab dalam memberi rasa pedas jahe. Telah diidentifikasi salah satu dari elemen ini yang disebut dengan gingerol, dengan rumus kimia 1-[4- hidroksi-3- methoksifenil]-5- hidroksi-alkan- 3-ol. Senyawa ini memiliki rantai samping yang bervariasi. Dan senyawa gingerol yang telah diidentifikasi diberi nama sesuai dengan rantai sampingnya yakni (3)-, (4)-, (5)-, (6)-, (8)-, (10) dan (12)-Gingerol. Senyawa lain yang lebih pedas namun memiliki konsentrasi yang lebih kecil ialah shogaol (fenilalkanone). Jahe memiliki berbagai macam komponen kimia, seperti gingerol, shogaol dan zingerone. Kandungan yang dimiliki oleh jahe merah tersebut dipercaya memiliki berbagai macam efek farmakologi dan fisiologi seperti antioksidan, antiinflamasi, analgesik, antikarsinogenik, non-toksik dan non-mutagenik meskipun pada konsentrasi tinggi (Manju dan Nalini 2005).

Beberapa kandungan aktif jahe diantaranya yaitu komponen oleoserin, flavonoid, dan minyak atsiri. Minyak atsiri mempunyai efek antimikroba, sedangkan flavonoid dan komponen fenol pada oleoserin memiliki efek antiinflamasi dengan jalan menghambat produksi enzim siklooksigenase dan lipooksigenase (Purwanto, 2013).

2.6.3.1 Kandungan Shogaol

Gingerol dan shogaol merupakan komponen fenolik jahe yang diketahui memiliki efek antiinflamasi. Penelitian terhadap senyawa gingerol menunjukkan efek yang kuat dalam menghambat proses biosintesis prostaglandin. Jahe dengan berbagai komponen pedasnya dapat menghambat metabolisme asam arakhidonat secara *in vitro*, yaitu dengan cara menghambat kedua enzimnya, siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase (LOX) (Sabina *et al.*, 2010).

Selain menghambat dari pengeluaran prostaglandin, gingerol juga merupakan antiinflamasi yang poten melalui mekanisme penghambatan pengaktifan dari NF-kB (Li *et al.*, 2013). Selain itu gingerol juga memiliki kemampuan penghambatan pengeluaran IL-8 (Yang *et al.*, 2011). Dari yang sudah dijelaskan sebelumnya NF-kB merupakan faktor transkripsi yang mengatur pengeluaran mediator-mediator sel radang. Gingerol labil terhadap perubahan suhu selama proses pengolahan maupun penyimpanan. Terdapat 2 jalur degenerasi gingerol, yakni:

- a) Dehidrasi menjadi shogaol, yakni campuran 3 homolog gingerol yang sama.
- b) Kondensasi retro-aldol menjadi zingerone, 4-(3- metoksi-4 hidroksifenil)-2-butanon), salah satu komponen pedas lain, serta merupakan aldehid alifatik yang dapat menghilangkan rasa jahe.

Konversi gingerol menjadi zingeron relatif lebih lambat dibandingkan dengan konversi gingerol menjadi shogaol. Konversi gingerol menjadi 2 komponen tersebut menunjukkan adanya penurunan kualitas jahe (Ravindran & Nirma, 2005).

Shogaol, juga dikenal sebagai (6)-shogaol, merupakan senyawa pedas pada jahe yang memiliki struktur kimia mirip dengan gingerol. Berbeda dengan

gingerol, shogaol dapat dihasilkan bila jahe dikeringkan atau dimasak. Kandungan senyawa ini pada jahe lebih sedikit bila dibandingkan dengan gingerol, namun sifat pedasnya lebih kuat dibandingkan dengan gingerol. Nama shogaol sendiri berasal dari bahasa Jepang, yakni shoga, yang berarti jahe. Shogaol pertama kali ditemukan oleh Nomura sebagai salah satu komponen pedas jahe. Sejauh ini, homolog (6)-shogaol yang telah ditemukan dalam jahe diantaranya (4)-, (8)-, dan (10)-shogaol. Biasanya, jahe segar hanya mengandung sedikit shogaol. Hal ini dikarenakan shogaol dapat terbentuk bila terjadi proses dehidrasi selama proses maupun penyimpanan jahe. Rasio antara gingerol dan shogaol dalam jahe segar sekitar 7:1. Namun ketika jahe diuapkan selama 10 jam kemudian diikuti dengan pengeringan, rasio ini berubah menjadi 1:1, hal ini menjelaskan adanya perubahan (6)-gingerol menjadi (6)-shogaol. Dengan kata lain jumlah (6)-gingerol dan (6)-shogaol dipengaruhi oleh kondisi pengolahan jahe. (6)- dan (8)-metilshogaol, memiliki gugus metoksil dan gugus hidroksil. Senyawa ini juga ditemukan dalam jahe (Ravindran dan Nirma, 2005).

Shogaol mempunyai kemampuan untuk mencegah pengeluaran prostaglandin I-1 dari aorta tikus yang diuji sebagai inhibitor dari agregasi platelet. Shogaol memiliki efek antiinflamasi dengan cara menghambat produksi enzim siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase (LOX) (Duke et. al., 2003).

2.6.3.2 Kandungan Flavonoid

Aktivitas antiinflamasi flavonoid terjadi karena adanya cincin benzopiron yang ada pada struktur flavonoid bisa berikatan dengan enzim siklooksigenase dan lipooksigenase (Narayana *et al.*, 2001). Flavonoid bekerja dengan menghambat sintesis prostaglandin, khususnya endoperoksidase yang berperan dalam proses inflamasi (Panda *et al.*, 2009; Kumbhare dan Sivakumar, 2011).

Efek antiinflamasi flavonoid juga didukung oleh aksinya sebagai antihistamin. Histamin adalah salah satu mediator inflamasi yang pelepasannya distimulasi oleh pemompaan kalsium ke dalam sel. Flavonoid dapat menghambat pelepasan histamin dari sel mast. Mekanisme lain dari flavonoid yaitu menstabilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) bereaksi dengan senyawa reaktif dari radikal sehingga radikal menjadi inaktif (Nijveldt *et al.*, 2001).

Mekanisme antiinflamasi yang dilakukan oleh flavonoid dapat melalui beberapa jalur yaitu:

1) Penghambatan aktivitas enzim siklooksigenase dan/atau lipooksigenase.

Aktivitas antiinflamasi flavonoid dilaporkan oleh Nijveldt *et al.*, (2001) dan Robak dan Gryglewski (1996) karena penghambatan siklooksigenase atau lipooksigenase. Penghambatan jalur siklooksigenase dan lipooksigenase ini secara langsung juga menyebabkan penghambatan biosintesis eikosanoid (Nijveldt *et al.*, 2001) dan leukotrien (Mueller, 2005), yang merupakan produk akhir dari jalur siklooksigenase dan lipooksigenase.

2) Penghambatan akumulasi leukosit.

Ferrandiz dan Alcaraz (1991) mengemukakan bahwa efek antiinflamasi flavonoid dapat disebabkan oleh aksinya dalam menghambat akumulasi leukosit di daerah inflamasi. Menurut Nijveldt *et al.*, (2001), pada kondisi normal leukosit bergerak bebas sepanjang dinding endotel. Selama inflamasi, berbagai mediator turunan endotel dan faktor komplemen mungkin menyebabkan adhesi leukosit ke dinding endotel sehingga menyebabkan leukosit menjadi imobil dan menstimulasi degranulasi netrofil. Nijveldt *et al.*, (2001) menyebutkan bahwa pemberian flavonoid dapat menurunkan jumlah leukosit imobil dan mengurangi aktivasi komplemen sehingga menurunkan adhesi leukosit ke endotel dan

mengakibatkan penurunan respon inflamasi tubuh.

3) Penghambatan degranulasi netrofil.

Nijveldt *et al.*, (2001) menduga bahwa flavonoid dapat menghambat degranulasi netrofil, sehingga secara langsung mengurangi pelepasan asam arakhidonat oleh netrofil. Penghambatan pelepasan histamin. Efek antiinflamasi flavonoid didukung oleh aksinya sebagai antihistamin. Nijveldt *et al.*, (2001) melaporkan bahwa flavonoid dapat menghambat pelepasan histamin dari sel mast. Mekanisme yang tepat belum diketahui, namun Mueller (2005) menduga bahwa flavonoid dapat menghambat enzim C-AMP fosfodiesterase sehingga kadar C-AMP dalam sel mast meningkat, dengan demikian kalsium dicegah masuk ke dalam sel yang berarti juga mencegah pelepasan histamin.

4) Penstabil *Reactive Oxygen Species* (ROS).

Efek flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung juga mendukung efek antiinflamasi flavonoid. Adanya radikal bebas dapat menarik berbagai mediator inflamasi (Nijveldt *et al.*, 2001). Nijveldt *et al.*, (2001) menambahkan bahwa flavonoid dapat menstabilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan bereaksi dengan senyawa reaktif dari radikal sehingga radikal menjadi inaktif.

2.7 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Rattus norvegicus merupakan tikus yang pada awalnya asli dari Cina Utara. Namun, setelah melewati perjalanan spesies ini dapat mencapai tanah Eropa Timur pada awal abad ke 18. Saat ini *Rattus norvegicus* dapat ditemukan di setiap benua kecuali Antartika. Di Asia, habitat tikus ini adalah di hutan tropis/beriklim. Namun, diketahui tikus ini bisa hidup dan berkembang biak dimanapun selagi tempat tersebut terdapat makanan maupun tempat tinggal untuk mereka.

Dan populasi tikus ini semakin meningkat pesat (Myers dan Armitage, 2004).

2.7.1 Klasifikasi

Kingdom : *Animalia*

Phylum : *Chordata*

Subphylum : *Vertebrata*

Kelas : *Mamalia*

Ordo : *Rodentia*

Famili : *Muridae*

Genus : *Rattus*

Spesies : *Rattus norvegicus* (Akbar, 2010).

Tikus memiliki kemampuan reproduksi yang sangat tinggi. Baik pejantan maupun betina rata-rata matang secara seksual pada usia 2–3 bulan. Di alam, betina akan dikawini oleh pejantan (sering tidak hanya satu pejantan yang mengawini). Setelah kawin, ketertarikan betina mulai menurun dengan ditandai sikap yang agresif dan cenderung melarikan diri. Kehamilan berlangsung sekitar 20-21 hari dan selama beberapa hari sebelum melahirkan, betina akan membuat sarang untuk anaknya. Dan sikap agresi maternal akan berlangsung hingga minggu pertama kelahiran anaknya, setelah itu siklus reproduksinya akan berulang kembali (Koolhaas, 2010).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina adalah mamalia yang tergolong ovulator spontan. Pada golongan ini ovulasi terjadi pada pertengahan siklus estrus yang dipengaruhi oleh adanya lonjakan LH (Luteinizing hormone). Tikus termasuk hewan yang bersifat poliestrus, memiliki siklus reproduksi yang sangat pendek. Setiap siklus lamanya berkisar antara 4-5 hari. Ovulasi sendiri berlangsung 8-11 jam sesudah dimulainya tahap estrus. Folikel yang sudah

kehilangan telur akibat ovulasi akan berubah menjadi korpus luteum, yang akan menghasilkan progesteron atas rangsangan LH. Progesteron bertanggung jawab dalam menyiapkan endometrium uterus agar reseptif terhadap implantasi embrio (Akbar, 2010).

2.7.2 Deskripsi Fisik

Rattus norvegicus merupakan anggota dengan ukuran cukup besar dalam keturunan keluarga tikus. Ukuran rata-rata tikus ini mencapai 400 mm (bila diukur dari hidung hingga ekor) dan berat mencapai 150-250 gram. Ukuran tikus jantan lebih besar dibanding betina. Dalam populasi alami, tubuh tikus ini ditutupi oleh bulu kecoklatan kasar di permukaan dorsal. Berbagai strain tikus yang dibesarkan di penangkaran berwarna putih, coklat, maupun hitam. Telinga dan ekor botak. Panjang ekor tikus ini lebih pendek dibanding panjang tubuhnya. Telinga *Rattus norvegicus* biasanya lebih pendek daripada spesies lainnya dan tidak menutupi mata ketika ditarik ke bawah (Myers dan Armitage, 2004).



Gambar 2.4. *Rattus norvegicus* (Akbar, 2010)

2.7.3 Reproduksi Tikus Betina

Tikus dan mencit memiliki banyak kemiripan dalam sistem maupun siklus reproduksi. Secara umum sistem reproduksi betina terdiri atas ovarium dan

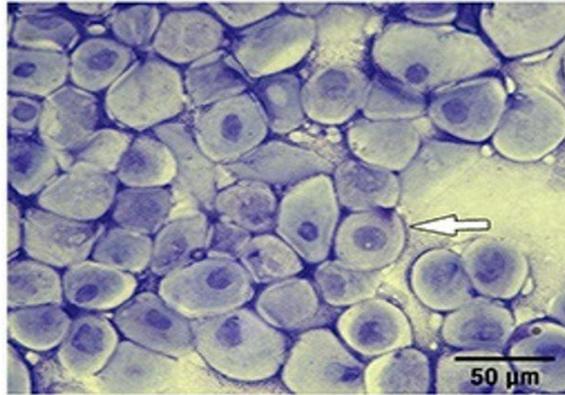
sistem duktus. Sistem tersebut tidak hanya menerima ovum yang diovolasikan dan membawa ke tempat implantasi di uterus, tetapi juga menerima sperma dan membawanya ke tempat fertilisasi yaitu tuba falopi. Pertumbuhan, fungsi otot dan epitel saluran betina ada dibawah pengaruh hormon dan ditentukan oleh pergeseran progresif dalam sekresi estrogen dan progesteron oleh ovarium selama siklus ovarium (Akbar, 2010).

2.7.4 Siklus Reproduksi

Pada beberapa mamalia siklus reproduksi disebut juga sebagai siklus estrus. Estrus atau birahi adalah suatu periode secara psikologis maupun fisiologis yang bersedia menerima pejantan untuk berkopulasi. Periode atau masa dari permulaan periode birahi ke periode birahi berikutnya disebut dengan siklus estrus (Akbar, 2010).

1) Fase Proestrus

Proestrus adalah fase sebelum estrus yaitu periode dimana folikel ovarium tumbuh menjadi folikel de graaf dibawah pengaruh FSH. Fase ini berlangsung sekitar 12 jam. Setiap folikel mengalami pertumbuhan yang cepat selama 2-3 hari sebelum estrus sistem reproduksi memulai persiapan untuk pelepasan ovum dari ovarium. Preparat apus vagina pada fase proestrus ditandai akan tampak jumlah sel epitel berinti dan sel darah putih berkurang, digantikan dengan sel epitel bertanduk, dan terdapat lendir yang banyak (Akbar, 2010).

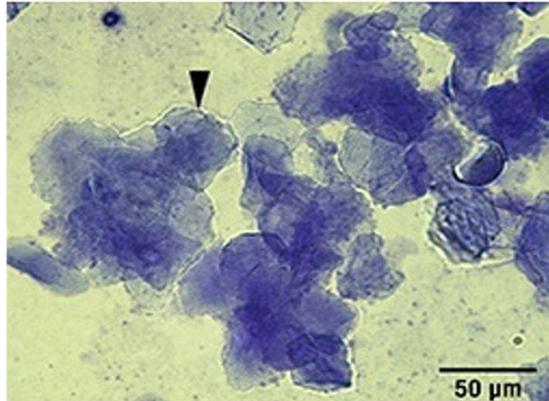


Gambar 2.5 Penampang Apusan Vagina pada Fase Proestrus dengan Pewarnaan Giemsa (Shannon *et al.*, 2012)

Pada gambar 2.5 menunjukkan penampang mikroskopis dari fase proestrus tikus yang ditandai dengan adanya kumpulan sel epitel berinti yang mendominasi ketika dilakukan *vaginal swab* atau apusan vagina dengan menggunakan pewarnaan giemsa.

2) Fase Estrus

Estrus adalah fase yang ditandai oleh penerimaan pejantan oleh hewan betina untuk berkopulasi, fase ini berlangsung sekitar 12 jam. Folikel de graaf membesar dan menjadi matang serta ovum mengalami perubahan ke arah pematangan. Pada fase ini pengaruh kadar estrogen meningkat sehingga aktivitas hewan menjadi tinggi, telinganya selalu bergerak-gerak dan punggung lordosis. Ovulasi hanya terjadi pada fase ini dan terjadi menjelang akhir siklus estrus. pada preparat apusan vagina ditandai dengan menghilangnya leukosit dan epitel berinti, yang ada hanya epitel bertanduk dengan bentuk tidak beraturan dan berukuran besar (Akbar, 2010).

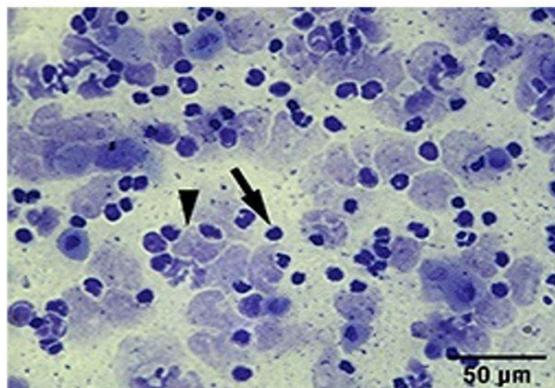


Gambar 2.6 Penampang Apusan Vagina pada Fase Estrus dengan Pewarnaan Giemsa (Shannon *et al.*, 2012)

Pada gambar 2.6 menunjukkan penampang mikroskopis dari fase estrus tikus yang ditandai dengan adanya sel epitel bertanduk yang mendominasi ketika dilakukan *vaginal swab* atau apusan vagina dengan menggunakan pewarnaan giemsa. Bentuk dari sel epitel bertanduk yaitu tidak beraturan, berukuran besar, dan nampak bergerombol.

3) Fase Metestrus

Metestrus adalah periode segera sesudah estrus dimana korpus luteum bertumbuh cepat dari sel granulosa folikel yang telah pecah dibawah pengaruh LH dan adenohipofisa. Metestrus sebagian besar berada dibawah pengaruh progesteron. Menjelang pertengahan sampai akhir metestrus, uterus menjadi agak lunak karena pengendoran otot uterus. Fase ini berlangsung sekitar 21 jam. Pada preparat apusan vagina ciri yang tampak yaitu epitel berinti dan leukosit terlihat lagi dan jumlah epitel bertanduk makin lama makin sedikit (Akbar, 2010).

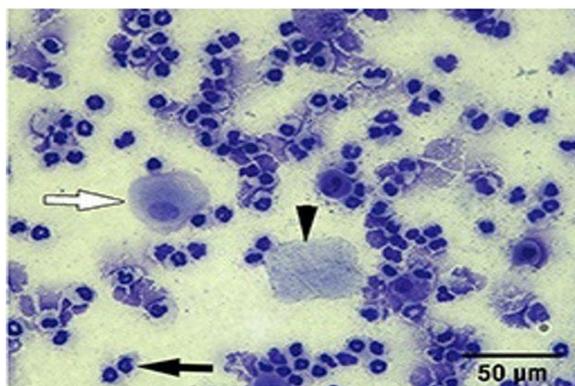


Gambar 2.7 Penampang Apusan Vagina pada Fase Metestrus dengan Pewarnaan Giemsa (Shannon *et al.*, 2012)

Pada gambar 2.7 menunjukkan penampang mikroskopis dari fase metestrus tikus yang ditandai dengan adanya kumpulan sel epitel berinti, sel epitel bertanduk, dan sel leukosit yang mana ketiganya memiliki komposisi yang sama pada preparat ketika dilakukan *vaginal swab* atau apusan vagina dengan menggunakan pewarnaan giemsa.

4) Fase Diestrus

Diestrus adalah periode akhir dan terlama siklus birahi pada ternak dan mamalia. Fase ini berlangsung sekitar 48 jam. Korpus luteum menjadi matang dan pengaruh progesteron terhadap saluran reproduksi menjadi nyata. Mulai terjadi perkembangan folikel-folikel primer dan sekunder dan akhirnya kembali ke proestrus. Pada preparat apus vagina dijumpai banyak sel darah putih dan epitel berinti yang letaknya tersebar dan homogen (Akbar, 2010).



Gambar 2.8 Penampang Apusan Vagina pada Fase Diestrus dengan Pewarnaan Giemsa (Shannon *et al.*, 2012)

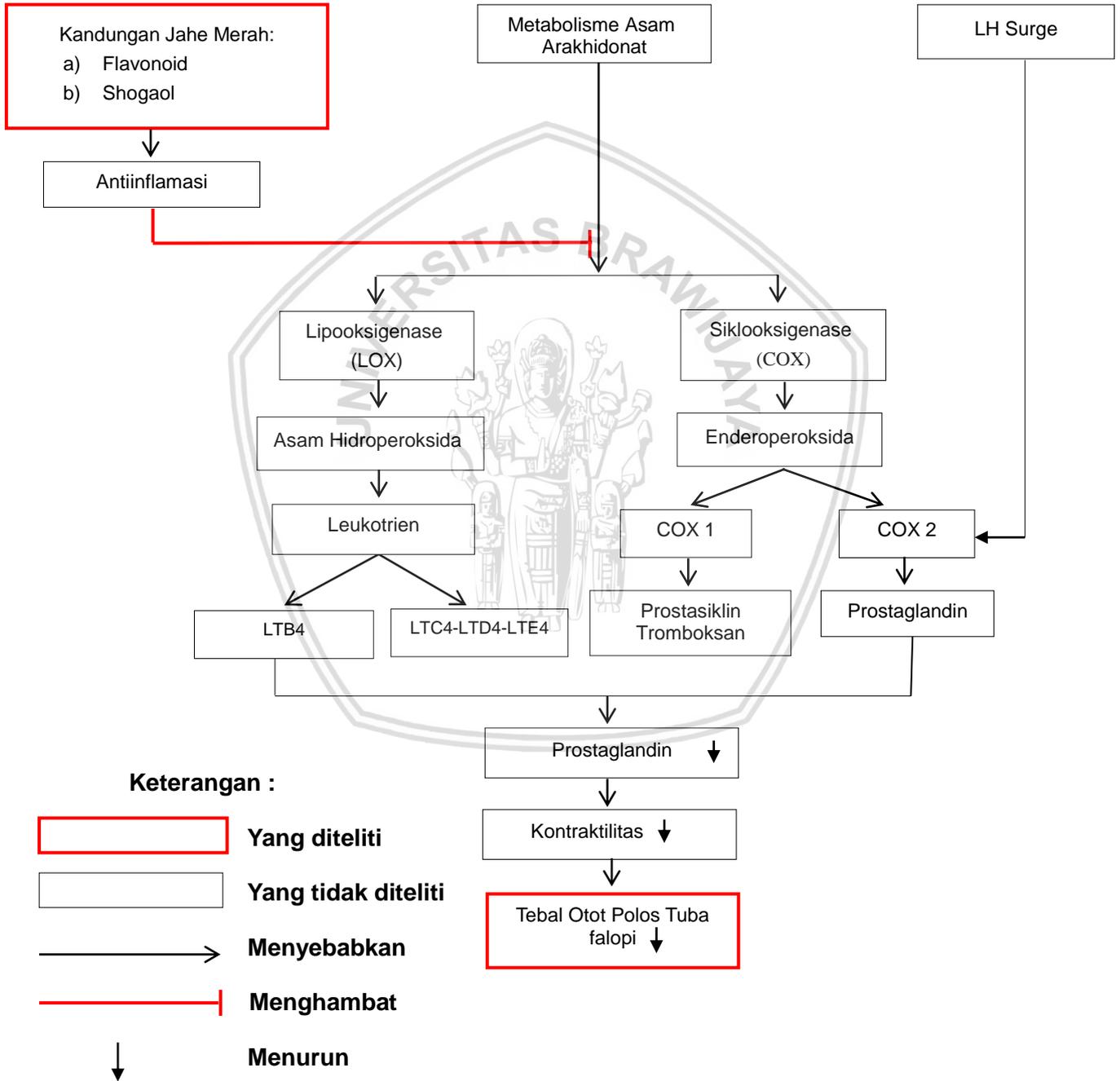
Pada gambar 2.8 menunjukkan penampang mikroskopis dari fase diestrus tikus yang ditandai dengan adanya kumpulan sel leukosit yang mendominasi preparat ketika dilakukan *vaginal swab* atau apusan vagina. Apusan vagina dilakukan dengan menggunakan pewarnaan giemsa.

Berdasarkan penelitian Susetyarini (2009) peneliti juga menggunakan hewan coba yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*). Hal ini dikarenakan hewan ini satu kelas dengan manusia, yaitu kelas mamalia. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) mempunyai sifat anatomi dan fisiologi yang mirip dengan manusia.

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Ovulasi terjadi karena adanya peningkatan kadar hormon LH yang cukup tinggi atau biasa disebut dengan LH surge. Setiap kenaikan LH dalam siklus estrus akan memicu peningkatan metabolisme asam arakhidonat. Terdapat dua jalur metabolisme asam arakhidonat, yaitu jalur lipooksigenase dan jalur siklooksigenase. Jalur lipooksigenase akan menghasilkan asam hidroperoksid yang nantinya memproduksi leukotrien (LT), diantaranya yaitu LTB-4, LTC-4, LTD-4, dan LTE-4. LTB-4 berperan dalam proses peradangan, dimana kadarnya akan meningkat selama periode ovulasi dan inhibitor dari reseptor LTB-4 ini dapat menghambat terjadinya ovulasi. Sedangkan LTC-4, LTD-4, dan LTE-4 memiliki peran dalam vasokonstriksi dan peningkatan permeabilitas pembuluh darah (Knight, 2014).

Sedangkan jalur siklooksigenase (COX) dibagi menjadi dua yaitu COX-1 dan COX-2. Jalur COX akan menghasilkan endoperoksid yang akan dikonversikan menjadi prostaglandin yang berasal dari metabolisme COX-2, tromboxan dan prostasiklin yang berasal dari metabolisme COX-1. Tromboxan mempunyai peran dalam vasokonstriksi pembuluh darah dan bronchoconstriksi agregasi. Prostrasiklin berperan dalam proteksi lambung, vasodilatasi pembuluh darah, dan antiagregasi. Sedangkan prostaglandin itu sendiri memiliki peran dalam proses peradangan. PGE-2 dan PGF-2 α merupakan prostaglandin yang memiliki peran penting dalam proses rupturnya folikel. Sehingga bisa dikatakan bahwa prostaglandin maupun leukotrien bertanggungjawab bagi sebagian besar dari gejala peradangan yang terjadi ketika ovulasi berlangsung.

Selain itu, dengan adanya pembuluh darah baru pada folikel akan menyebabkan peningkatan permeabilitas vaskular yang akan menyebabkan

edema pada jaringan folikel sekitarnya dan dapat juga meningkatkan plasminogen. Dengan adanya prostaglandin akan memicu terbentuknya aktivator plasminogen yang nantinya berperan dalam perubahan plasminogen menjadi plasmin. Kemudian plasmin tersebut akan masuk ke dalam folikel. Di dalam folikel, plasmin akan merubah kolagenase yang tidak aktif menjadi aktif yang mana akan melemahkan kolagen dari tunika albuginea dan lapisan theca. Selain itu, plasmin akan merangsang sel granulosa untuk menghasilkan cairan folikuler sehingga terjadi pembengkakan folikel. Pada saat yang bersamaan terjadi degenerasi stigma dengan terlihat adanya desakan keluar dan dinding semakin lemah. Dengan adanya pembengkakan dinding folikel dan degenerasi stigma mengakibatkan pecahnya dinding folikel yang disertai dengan pengeluaran ovum dan terjadilah ovulasi.

Jahe merah memiliki beberapa kandungan yang berperan sebagai zat antiinflamasi, diantaranya yaitu flavonoid dan shogaol. Kandungan zat tersebut dapat menghambat proses jalur lipooksigenase dan siklooksigenase yang nantinya akan mengakibatkan produksi dari prostaglandin dan leukotrien mengalami penurunan. Hal tersebut nantinya akan berpengaruh pada dinding folikel, dimana tidak akan terjadi ruptur dinding folikel, dan ovulasi juga tidak akan terjadi.

Tuba falopi berfungsi membawa sperma dan telur ke tempat terjadinya fertilisasi di dalam tuba dan mengembalikan zigot yang telah dibuahi ke dalam rongga uterus untuk proses implantasi. Tuba falopi memiliki fungsi menangkap ovum saat ovulasi, lalu mengantarkan ovum untuk bertemu dengan sperma sampai terjadinya konsepsi. Fungsi tersebut dipengaruhi oleh otot polos, jumlah epitel bersilia dan epitel sekretorik. Penipisan tebal lapisan otot polos tuba falopi

dapat disebabkan karena adanya hambatan proliferasi sel dengan penghambatan pembentukan membran sel sehingga proses fisiologi membran menjadi terganggu yang akhirnya akan menyebabkan tebal sel otot polos tuba falopi mengalami penipisan. Mekanisme tersebut bisa disebabkan karena adanya kandungan zat yang ada pada jahe merah.

3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak jahe merah dapat mengurangi ketebalan sel otot polos tuba falopi *Rattus norvegicus* strain wistar.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen mumi (*true experimental design*) di laboratorium secara *in vivo* menggunakan rancangan *Randomized Post Test Only Controlled Group Design* yaitu rancangan yang digunakan untuk mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan perlakuan dengan kelompok kontrol.

Dalam penelitian ini menggunakan hewan uji coba tikus *Rattus norvegicus strain wistar* betina dewasa yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.2 Populasi dan Sampel

Sampel penelitian adalah tikus putih strain wistar (*Rattus norvegicus*) betina dewasa dengan karakteristik usia sekitar 8-12 minggu dan berat sekitar 150-200gram sebanyak 20 ekor (Marcondes *et al.*, 2002). Penelitian ini membagi sampel dalam 4 kelompok perlakuan, yaitu:

- a. Kelompok kontrol (n=5): sampel diberikan diet makanan standar tanpa pemberian ekstrak jahe merah selama 3 kali siklus estrus.
- b. Kelompok perlakuan I (n=5): sampel diberikan ekstrak jahe merah dengan dosis 0,3 gram/KgBB secara oral dengan menggunakan sonde selama 3 kali siklus estrus.
- c. Kelompok perlakuan II (n=5): sampel diberikan ekstrak jahe merah dengan dosis 0,6 gram/KgBB secara oral dengan menggunakan sonde selama 3 kali siklus estrus.

d. Kelompok perlakuan III (n=5): sampel diberikan ekstrak jahe merah dengan dosis 1,2 gram/KgBB secara oral dengan menggunakan sonde selama 3 kali siklus estrus.

Berbagai dosis tersebut diambil dari penelitian Lestari (2002) mengenai pengaruh pemberian ekstrak jahe sebagai analgesik dan antiinflamasi pada tikus strain wistar yang memberikan hasil signifikan pada ketiga dosis tersebut pada menit ke-60 pemberian perlakuan dan onset pada menit ke-30. Dalam penelitian tersebut juga dinyatakan bahwa dosis jahe minimal yang dapat memberikan efek antiinflamasi adalah 0,9 gr/kgBB/hari.

Penelitian Lestari (2002) menggunakan 3 dosis yang berbeda yaitu 0,9 gr/kgBB/hari, 1,8 gr/kgBB/hari, dan 3,6 gr/kgBB/hari yang ketiganya memberikan hasil yang signifikan. Peneliti menggunakan 3 dosis yang berbeda juga yang mengacu pada penelitian Lestari (2002) tersebut, namun peneliti membagi dosisnya menjadi 2 karena pemberian dosis tersebut dilakukan selama 2 siklus estrus.

Untuk perhitungan besarnya pengulangan pada sampel menggunakan rumus sebagai berikut:

$$p(n-1) \geq 15 \text{ (Solimun, 2001)}$$

Keterangan:

n= jumlah sampel tiap perlakuan

p= jumlah perlakuan

Jumlah sampel tiap perlakuan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

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

$$pn - n \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Dengan demikian dapat diambil sampel $\geq 4,75$ untuk tiap perlakuan. Agar diperoleh data yang lebih teliti, masing – masing perlakuan digunakan sampel sebanyak 5 ekor tikus, sehingga total tikus yang diperlukan sebesar 20 ekor. Sebagai cadangan karena adanya resiko kematian dan siklus yang tidak normal, maka diberikan penambahan hewan uji coba sebanyak 2 ekor tikus per kelompok, sehingga total tikus secara keseluruhan adalah 28 ekor.

4.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

a. Kriteria inklusi

Tikus *Rattus novvergicus strain wistar* betina yang sehat, berbulu putih dan tampak aktif, berusia sekitar 8-12 minggu dengan berat badan sekitar 150-200 gram, siklus estrus normal selama 2 kali siklus berturut turut (lama siklus 4-5 hari).

b. Kriteria eksklusi

Tikus yang tampak lemas atau mati dan tikus yang selama penelitian tidak mau makan, tikus bunting.

4.4. Variabel Penelitian

a. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pengaruh ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) dengan 3 dosis yang berbeda, yaitu dosis 1 (0,3 gr/KgBB), dosis 2 (0,6 gr/KgBB), dan dosis 3 (1,2 gr/KgBB) terhadap perubahan histologi tebal sel otot polos tuba falopi *Rattus norvegicus* strain wistar.

b. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah perubahan histologi tebal sel otot polos tikus putih strain wistar (*Rattus norvegicus*) yang disebabkan oleh pemberian ekstrak etanol jahe merah.

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Juli-September 2017 untuk prosedur perawatan tikus dan pemberian perlakuan. Sedangkan untuk pengambilan data dan penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.6 Bahan dan Alat/ Instrumen Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian kali ini antara lain yaitu:

a. 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 tikus, diet untuk hewan uji coba. Diet yang diberikan dalam penelitian ini menggunakan pakan standar.

b. Pembuatan ekstrak rimpang jahe merah

Alat : pisau, *blender*, labu erlenmeyer, timbangan, oven, pendingin spiral/*rotary evaporator* untuk memisahkan ekstrak dengan pelarutnya, labu evaporator, labu penampung etanol, corongan gelas, selang *water pump*, *water pump*, *water bath*, *vacuum pump*, botol hasil ekstrak.

Bahan : rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) dalam bentuk serbuk yang diperoleh dari Batu Materia Medica, etanol 96%, aquades.

c. Pemberian perlakuan kepada hewan coba

Alat : sonde lambung, sarung tangan.

Bahan : ekstrak etanolik rimpang jahe merah dalam beberapa dosis.

d. Penentuan dan perhitungan fase pada siklus estrus hewan coba

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

Bahan : Normal Saline (NaCl 0,9%), larutan etanol, aquades, larutan giemsa.

e. Pewarnaan tuba falopi

Bahan : Harris hematoksin, alkohol asam 1%, amonia lithium karbonat dan eosin.

f. Pengamatan histologi tuba falopi

Alat : mikroskop Manual Dot Slide Olympus XC 10.

4.7 Definisi Operasional

a. Hewan coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jenis *Rattus norvegicus* strain wistar betina usia sekitar 8-12 minggu, dengan berat badan sekitar 150-200gram yang sehat.

b. Ekstrak rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum)

Rimpang jahe merah dalam bentuk serbuk diperoleh dari Batu Materia Medica, Batu, Malang. Sedangkan proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Farmakologi FK UB menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% kemudian ekstrak yang diperoleh diuapkan dan dipekatkan, hingga didapat ekstrak kental.

c. Sel otot polos tuba falopi

Sel otot polos tuba falopi yang akan diukur diambil pada fase estrus siklus estrus ke empat dan diwarnai dengan pewarnaan HE (Hematoksin Eosin). Kemudian diamati dengan menggunakan Mikroskop *Manual Dot Slide Olympus XC 10* dengan 4 lapang pandang.

4.8 Prosedur Penelitian/ Pengumpulan Data

4.8.1 Persiapan dan Pemeliharaan Hewan Coba

Untuk persiapan dan pemeliharaan hewan coba selama penelitian menggunakan referensi yang diambil dari penelitian yang telah dilakukan oleh Umami (2014), dimana prosedurnya adalah sebagai berikut:

- a. Tikus ditimbang sesuai dengan kriteria untuk mendapatkan subjek penelitian yang diinginkan.
- b. Setelah didapatkan subjek penelitian yang sesuai dengan kriteria, tikus diberikan masa adaptasi selama 7 hari pada kondisi laboratorium, tempat percobaan, waktu makan, kandang, dan eksplorasi terhadap pakan tikus. Pemberian makan dan minum dengan diet normal pakan standar yang diberikan secara *ad libitum*.
- c. Penempatan subjek penelitian dalam kandang terpisah (1 ekor per kandang) untuk menghindari terjadinya pemanjangan siklus estrus dan mempermudah

perlakuan yang diberikan pada tikus.

- d. Dilakukan pengacakan perlakuan agar setiap hewan coba memiliki peluang yang sama untuk mendapatkan perlakuan.

4.8.2 Identifikasi Siklus Estrus Hewan Coba

Sebelum hewan coba diberikan perlakuan, maka dilakukan pemeriksaan apusan vagina untuk mengetahui siklus estrus setiap hewan coba yaitu *Rattus norvegicus* strain wistar berada pada fase proestrus, estrus, metestrus, atau diestrus. Identifikasi fase estrus dilakukan selama 2 siklus pada setiap tikus. Setelah itu, pemeriksaan apusan vagina ini dilakukan untuk mengidentifikasi apakah lama siklus estrus setiap tikus normal (4-5 hari) atau tidak (kurang atau lebih dari 4-5 hari). Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 1 kali sehari pada pukul 09.00 WIB (Paccola *et al.*, 2013). Adapun prosedurnya sebagai berikut:

- a. Tikus dipegang dengan benar dengan menggunakan sarung tangan
- b. *Cotton bud* steril dibasahi dengan menggunakan larutan NaCl 0,9% kemudian dimasukkan ke dalam lubang vagina tikus betina
- c. Dilakukan pengusapan dengan 2-3 kali putaran
- d. Hasil usapan dari *cotton bud* dioleskan pada kaca objek dan dikeringkan
- e. Pengambilan sampel apusan vagina dibuat sebanyak 1 preparat atau kaca objek untuk 1 ekor tikus
- f. Preparat apusan yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam larutan alkohol untuk difiksasi selama 3 menit kemudian diangkat dan dikeringkan
- g. Preparat dimasukkan ke dalam larutan giemsa selama 2-3 menit kemudian diangkat dan dibilas menggunakan air mengalir lalu dikeringkan
- h. Morfologi sel epitel apusan vagina diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 x kemudian dilakukan pencatatan dan pendokumentasian

- i. Setelah fase estrus pada setiap tikus teridentifikasi, selanjutnya tikus diberikan identitas dengan meletakkan kertas label pada setiap kandang (Umami, 2014).

4.8.3 Pembuatan Ekstrak Etanolik Rimpang Jahe Merah

Pembuatan ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) dilakukan dengan 3 proses yaitu proses pengeringan, ekstraksi, dan evaporasi. Rimpang jahe merah berupa serbuk diperoleh dari Batu Materia Medica, Kota Batu. Sedangkan proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Adapun tahapannya adalah sebagai berikut:

a. Proses pengeringan

- 1) Cuci bersih rimpang jahe merah yang akan dikeringkan
- 2) Potong kecil-kecil
- 3) Oven dengan suhu 80° C sampai kering (bebas kandungan air)

b. Proses ekstraksi

- 1) Setelah kering, haluskan dengan *blender* sampai halus
- 2) Timbang sampel kering (bubuk jahe merah) sebanyak 100 gram
- 3) Masukkan 100 gram sampel kering ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 L
- 4) Rendam dengan etanol 900 ml (1 L)
- 5) Kocok sampai benar-benar tercampur (+/- 30 menit)
- 6) Diamkan 1 malam sampai mengendap

c. Proses evaporasi

- 1) Ambil lapisan atas campuran etanol dengan zat aktif yang sudah terambil
- 2) Masukkan dalam labu evaporasi 1 liter
- 3) Pasang labu evaporasi pada evaporator
- 4) Isi *water bath* dengan air sampai penuh

- 5) Pasang semua rangkaian alat termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (atur sampai 90° C), sambungkan dengan aliran listrik
- 6) Biarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu
- 7) Tunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung (+/- 1,5 jam sampai 2 jam untuk 1 labu)
- 8) Hasil yang diperoleh kira-kira 1/5 dari bahan alam kering
- 9) Masukkan hasil ekstraksi dalam botol plastik/kaca
- 10) Simpan dalam freezer (Susilo, 2012).

4.8.4 Perlakuan Hewan Coba

Setelah dilakukan pengamatan pada apusan vagina setiap siklus sebelum diberikan perlakuan, maka dapat diketahui fase estrus pada setiap tikus sudah sampai tahap mana. Ekstrak jahe merah di berikan secara oral menggunakan sonde lambung dengan dosis yang telah ditetapkan pada tikus yang memasuki akhir fase proestrus. Pemberian ekstrak jahe merah dilakukan pada pukul 10.00 WIB dan 14.00 WIB dengan membagi dosis dalam sehari menjadi dua kali pemberian. Penentuan perlakuan ini didasarkan penelitian dari Akpantah *et al.* (2005), dimana pemberian ekstrak biji *Garcinia kola* terhadap jumlah oosit di tuba falopi, dilakukan pada pukul 10.00, 14.00, dan 18.00 WIB. Hasil penelitian signifikan pada pukul 10.00 dan 14.00 WIB, namun tidak signifikan pada pemberian pukul 18.00 WIB. Oleh karena itu, pemberian ekstrak jahe merah dalam penelitian ini dilakukan 2 kali sehari pada pukul 10.00 dan 14.00 WIB selama 3 siklus dimulai dari fase estrus. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa pemberian perlakuan pada waktu-waktu tersebut dapat mempengaruhi ovulasi dengan hasil yang cukup signifikan. Kombinasi ekstrak jahe merah diberikan

secara oral dengan menggunakan sonde lambung setelah diketahui siklus estrus masing masing tikus seragam. Pemberian ekstrak dilakukan dengan menimbang ekstrak kental sesuai dosis yang telah ditentukan dan diencerkan dengan larutan aquades sebanyak 1 ml per1 kali dosis pemberian agar tidak melebihi kapasitas gastrik tikus.

Pemberian ekstrak dilakukan setiap hari pada pukul 10.00 WIB dan pukul 14.00 WIB hari sesuai dosis yang ditentukan dalam 3 kali siklus estrus dan diberhentikan pemberiannya pada fase estrus siklus estrus ke empat. Hal tersebut dikarenakan pemberian zat antiinflamasi dapat mengganggu ovulasi jika diberikan sebelum terjadi lonjakan LH yaitu pada fase proestrus. Selanjutnya dilakukan pembedahan pada fase estrus siklus estrus ke empat.

4.8.5 Pengenceran Ekstrak Jahe Merah

Sebelum disondekan, ekstrak jahe merah diencerkan terlebih dahulu dengan menggunakan aquadest agar lebih mudah dalam memberikan perlakuan. Untuk mengetahui kebutuhan ekstrak yang akan diencerkan maka digunakan rumus sebagai berikut:

$$[BB \text{ (gr)} : 1000 \text{ gr (gr)}] \times \text{dosis yang ditentukan}$$

Dosis 1

0,3 gr/KgBB

BB tikus 200 gr

Untuk 2 kali pemberian (1 kali pemberian 0,15 gr)

Jumlah tikus 7 ekor

Pemberian perlakuan selama 15 hari

Perhitungan = $(200 \text{ gr}/1.000 \text{ gr}) \times 300 \text{ mg} = 60 \text{ mg}/2 \text{ cc}$

Perhitungan untuk 7 tikus = $60 \text{ mg}/2 \text{ cc} \times 7 \text{ ekor} = 420 \text{ mg}/14 \text{ cc}$

$$\begin{aligned} \text{Pemberian selama 15 hari} &= 420 \text{ mg}/14 \text{ cc} \times 15 \text{ hari} \\ &= 6.300 \text{ mg}/210 \text{ cc} \\ &= 6,3 \text{ gr}/210 \text{ cc} \end{aligned}$$

b) Dosis 2

0,6 gr/KgBB

BB tikus 200 gr

Untuk 2 kali pemberian (1 kali pemberian 0,3 gr)

Jumlah tikus 7 ekor

Pemberian perlakuan selama 10 hari

$$\text{Perhitungan} = (200 \text{ gr}/1.000 \text{ gr}) \times 600 \text{ mg} = 120 \text{ mg}/2 \text{ cc}$$

$$120 \text{ mg}/2 \text{ cc} \times 7 \text{ ekor} = 840 \text{ mg}/14 \text{ cc}$$

Pemberian selama 10 hari = 840 mg/14 cc x 10 hari

$$= 8.400 \text{ mg}/140 \text{ cc}$$

$$= 8,4 \text{ gr}/140 \text{ cc}$$

c) Dosis 3

1,2 gr/KgBB/hari

BB tikus 200 gr

Untuk 2 kali pemberian (1 kali pemberian 0,6 gr)

Jumlah tikus 7 ekor

Pemberian perlakuan selama 5 hari

$$\text{Perhitungan} = (200 \text{ gr}/1.000 \text{ gr}) \times 1.200 \text{ mg} = 240 \text{ mg}/2 \text{ cc}$$

$$240 \text{ mg}/2 \text{ cc} \times 7 \text{ ekor} = 1.680 \text{ mg}/14 \text{ cc}$$

Pemberian selama 15 hari = 1.680 mg/14 cc x 5 hari

$$= 8.400 \text{ mg}/70 \text{ cc}$$

$$= 8,4 \text{ gr}/70 \text{ cc}$$

Total ekstrak yang diperlukan = 6,3 gr + 8,4 gr + 8,4 gr = 23,1 gr. Dimana dosis yang diberikan setiap 1 kali pemberian akan dikonversikan menjadi 1 ml dalam bentuk larutan. Pengkonversian dosis ditentukan berdasarkan standar prosedur operasional yang terdapat pada Laboratorium Farmakologi FKUB.

4.8.6 Prosedur Pengambilan Organ

Setelah diberi ekstrak jahe merah selama 3 siklus estrus, lalu saat dilakukan *swab vagina* pada pukul 09.00 WIB telah diketahui bahwa tikus telah memasuki fase estrus, dilakukan pembedahan dengan langkah sebagai berikut:

- a. Tikus diterminasi dengan cara dislokasi *cervical*.
- b. Tikus yang telah mati diletakkan pada alas papan dengan perut menghadap ke atas menggunakan paku payung yang ditancapkan pada empat telapak kaki tikus.
- c. Dinding perut dibuka menggunakan pinset dan gunting dengan hati-hati, dilakukan sayatan pada garis tengah dilanjutkan ke samping kiri dan kanan pada sisi atas dan bawah, lalu diafragma dibuka.
- d. Mencari tuba falopi kanan dan kiri tikus dengan hati-hati dan diambil lalu dipisahkan.
- e. Hasil yang diperoleh dikelompokkan berdasarkan kelompok perlakuan.
- f. Tuba falopi kanan dan kiri tikus difiksasi dengan menggunakan formalin 10% dan dikirimkan ke Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk dibuat preparat histologi dan dilakukan pewarnaan *Hematoxylline-Eosin* lalu dilakukan pengamatan ketebalan sel otot polos tuba falopi.
- g. Bangkai tikus yang tidak digunakan lagi akan dikubur oleh petugas laboratorium (Umami, 2014).

4.8.7 Pembuatan Preparat Histologi

Pembuatan preparat histologi tuba falopi dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UB dengan standar prosedur yang sudah ada, untuk prosedurnya adalah sebagai berikut:

a. Proses pemotongan jaringan berupa makros

- 1) Jaringan atau spesimen penelitian harus sudah terfiksasi dengan formalin 10% atau dengan buffer formalin 10% minimal selama 7 jam sebelum dilakukan proses pengerjaan berikutnya
- 2) Jaringan dipilih yang terbaik sesuai dengan lokasi yang akan diteliti
- 3) Jaringan dipotong kurang lebih dengan ketebalan 2-3 mm
- 4) Dimasukan ke kaset dan diberi kode sesuai dengan kode gross peneliti
- 5) Jaringan kemudian diproses dengan alat *Automatik Tissue Tex Prosesor* atau dengan cara manual
- 6) Standar di Laboratorium Patologi Anatomi FKUB menggunakan *Automatik Tissue Tex Prosesor* selama 90 menit
- 7) Alarm bunyi tanda selesai.

b. Proses pengeblokan dan pemotongan jaringan

- 1) Jaringan diangkat dari mesin *Tissue Tex Prosesor*
- 2) Jaringan diblok dengan paraffin sesuai kode jaringan
- 3) Jaringan dipotong dengan alat microtome ketebalan 3-5 mikron.

c. Proses deparafinisasi

1. Jaringan diletakkan ke dalam oven selama 30 menit dengan suhu panas 70-80°C
2. Jaringan dimasukkan ke dalam 2 tabung larutan xylol masing-masing 20 menit

3. Jaringan dimasukkan ke 4 tabung alkohol masing-masing tempat 3 menit

4. Jaringan dimasukkan air mengalir selama 15 menit.

d. Proses pewarnaan (HE)

1) Cat utama Harris Hematoksilin selama 10-15 menit

2) Cuci dengan air mengalir selama 15 menit

3) Alkohol asam 1 % 2-5 celup

4) Amonia lithium karbonat 3-5 celup (bila kurang biru)

5) Eosin selama 10-15 menit.

e. Alkohol bertingkat

1) Alkohol 70% 3 menit

2) Alkohol 80% 3 menit

3) Alkohol 96% 3 menit

4) Alkohol absolut 3 menit

f. Penjernihan (*Clearing*)

1) Xylol 15 menit

2) Xylol 15 menit

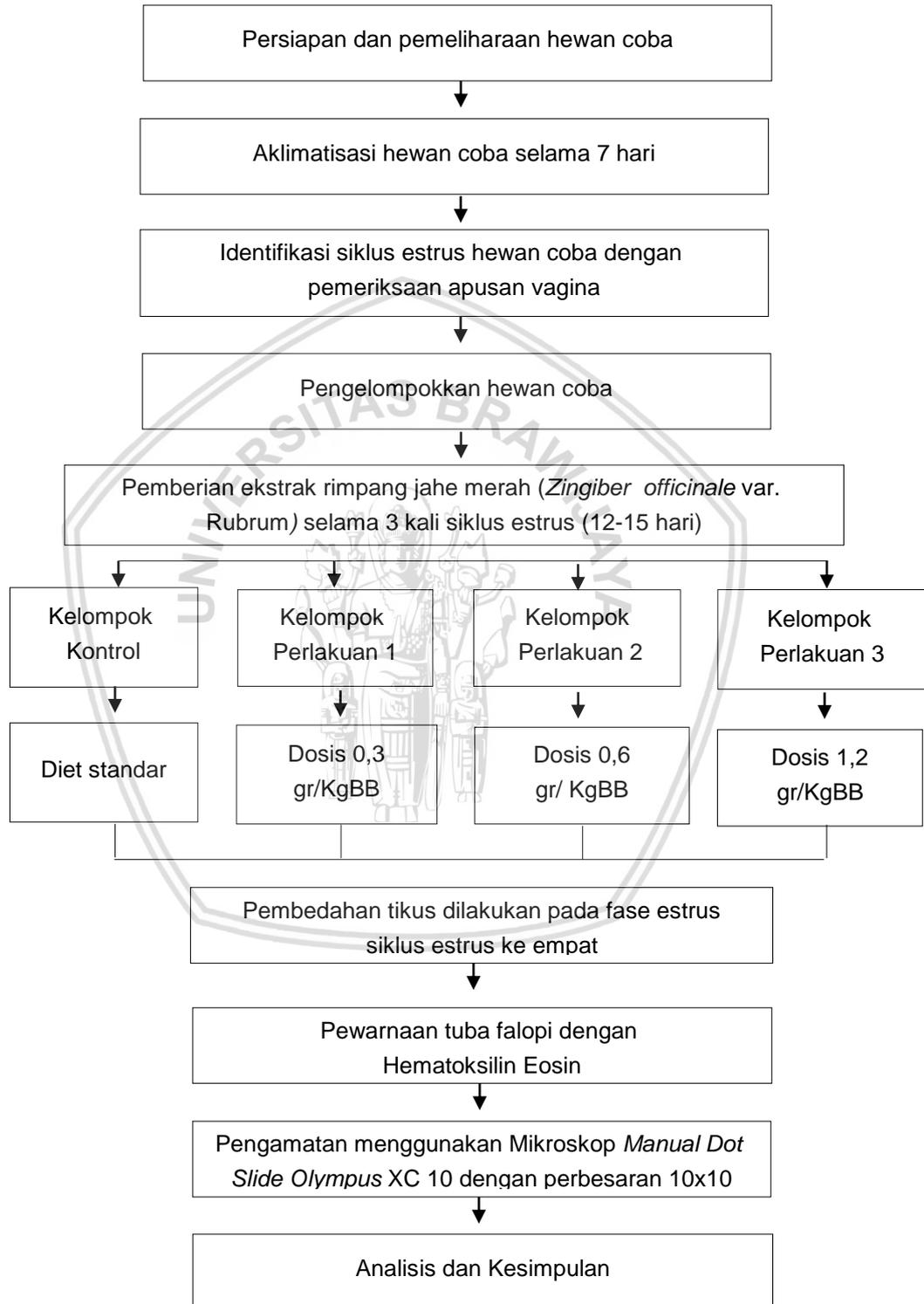
g. *Mounting* dengan entelan dan *deckglass*

Slide/objek glass ditutup dengan cover glass dan biarkan slide kering pada suhu ruangan. Setelah slide kering siap untuk diamati (Umami, 2014).

4.8.8 Pengamatan Tebal Lapisan Otot Polos Tuba falopi

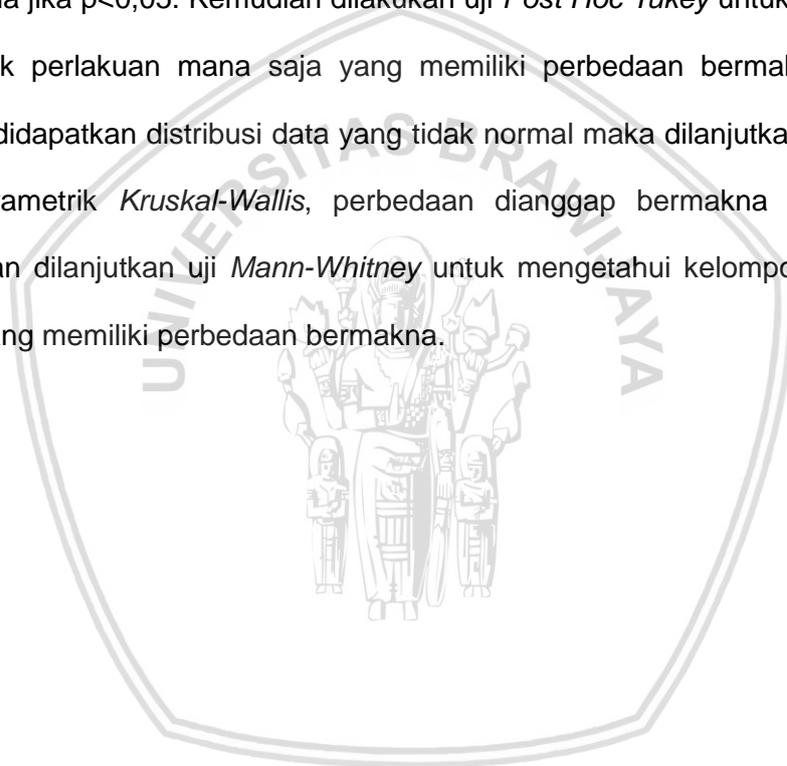
Setelah tikus dibedah, organ tuba falopi diambil untuk dilakukan pemeriksaan histologi pada tebal lapisan sel otot polos tuba falopi dengan metode pengecatan Hematoksilin-Eosin potongan melintang. Pengamatan menggunakan mikroskop *Manual Dot Slide Olympus XC 10* dengan perbesaran 100x.

4.9 Diagram Alur Penelitian



4.10 Analisis Data

Data yang dikumpulkan merupakan data hasil pemeriksaan histologi tuba falopi secara langsung. Data hasil penelitian yaitu tebal set otot polos tuba falopi. Uji normalitas dengan menggunakan uji *Saphiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test*. Apabila didapatkan distribusi data normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA*, perbedaan dianggap bermakna jika $p < 0,05$. Kemudian dilakukan uji *Post Hoc Tukey* untuk mengetahui kelompok perlakuan mana saja yang memiliki perbedaan bermakna. Namun apabila didapatkan distribusi data yang tidak normal maka dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*, perbedaan dianggap bermakna jika $p < 0,05$. Kemudian dilanjutkan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang memiliki perbedaan bermakna.



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Pada bab ini akan ditampilkan mengenai hasil penelitian dan analisis data berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Juli-September 2017. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih betina dewasa dengan jenis *Rattus norvegicus* strain Wistar yang berjumlah 20 ekor. Sebelum mendapatkan perlakuan, tikus diaklimatisasi selama 7 hari di Laboratorium Farmakologi untuk beradaptasi dengan lingkungan yang baru. Pada hari ke 8-17 dilakukan swab vagina untuk mengetahui normal atau tidaknya siklus estrus. Selanjutnya tetap dilakukan swab vagina pada tikus untuk mengetahui fase estrus. Setelah diperoleh fase estrus, tikus diberikan perlakuan berupa pemberian ekstrak jahe merah selama 3 kali siklus estrus. Berikut ini adalah kelompok perlakuan tikus:

- a. Kelompok Kontrol (n=5): sampel diberikan diet makanan standar dan pemberian aquadest secara oral dengan menggunakan sonde selama 3 kali siklus estrus.
- b. Kelompok Perlakuan I (n=5): sampel diberikan ekstrak jahe merah dengan dosis 0,3 gram/KgBB secara oral dengan menggunakan sonde selama 3 kali siklus estrus.
- c. Kelompok Perlakuan II (n=5): sampel diberikan ekstrak jahe merah dengan dosis 0,6 gram/KgBB secara oral dengan menggunakan sonde selama 3 kali siklus estrus.

d. Kelompok Perlakuan III (n=5): sampel diberikan ekstrak jahe merah dengan dosis 1,2 gram/KgBB secara oral dengan menggunakan sonde selama 3 kali siklus estrus.

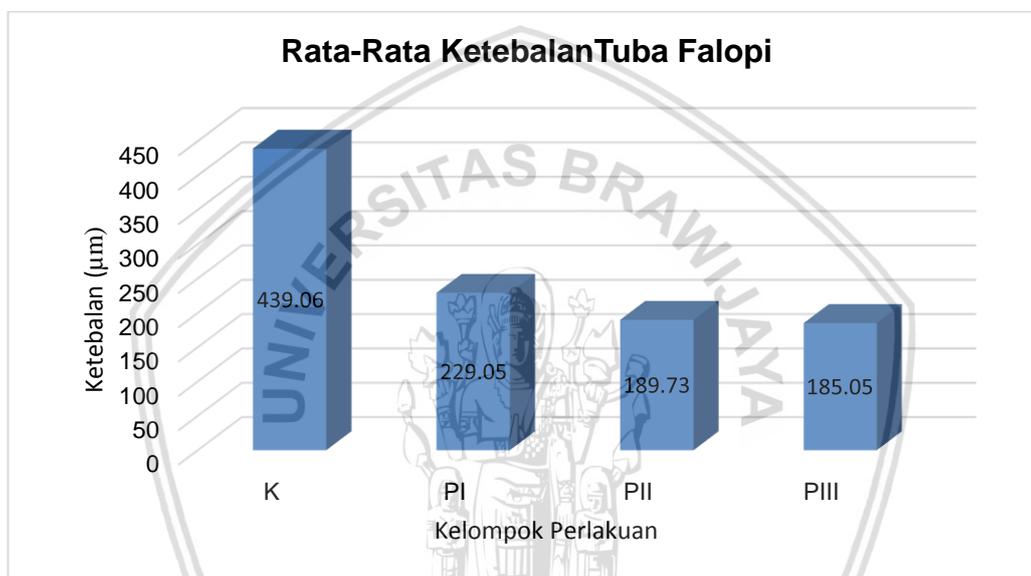
Selama diberi perlakuan, tikus juga dilakukan swab vagina selama 3 siklus secara berturut-turut, kemudian terminasi dilakukan ketika tikus berada pada fase estrus pada siklus ke 4. Tikus diterminasi dengan dislokasi leher, kemudian diambil organ tuba kanan dan tuba kiri. Organ tuba kanan dan kiri dipisahkan dan selanjutnya dikirimkan ke Laboratorium Patologi Anatomi FKUB untuk dilakukan pemeriksaan histologi dengan metode pengecatan *Hematoksilin-Eosin* yang bertujuan untuk mengetahui ketebalan lapisan sel otot polos tuba falopi, setelah itu slide yang sudah jadi diamati dengan menggunakan mikroskop *Manual Dot Slide Olympus XC 10* yang dilihat dengan 4 lapang pandang.

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Ketebalan Tuba Falopi

Dalam penelitian ini, pengukuran tebal tuba falopi dilakukan setelah semua kelompok mendapatkan perlakuan selama 3 kali siklus estrus (12-15 hari). Setelah mendapatkan perlakuan dalam kurun waktu tersebut, tikus kemudian diterminasi dengan cara dislokasi leher dan tuba falopi tikus diambil. Tuba falopi kemudian diproses di Laboratorium Patologi Anatomi untuk dibuat sediaan histopatologinya dengan penampang melintang dari tuba falopi tersebut. Pengukuran ketebalan tuba falopi dilakukan dengan menggunakan *software Scan Dot Slide* dengan perbesaran 100x. Kemudian menghitung ketebalan sel otot polos tuba falopi pada 4 sisi lapang pandang (arah jam 12.00, 03.00, 06.00, dan 09.00).

Rata-rata ketebalan tuba falopi diukur dari sel sirkuler sampai dengan sel longitudinal. Data rata-rata ketebalan tuba falopi secara keseluruhan kami lampirkan sebagai data penunjang dari penelitian utama kami mengenai ketebalan sel otot polos tuba falopi. Rata-rata ketebalan tuba falopi diukur dari sel sirkuler sampai dengan sel longitudinal. Rata-rata ketebalan tuba falopi dapat dilihat pada grafik dibawah ini.



Gambar 5.1 Rata-Rata Ketebalan Tuba Falopi

Keterangan:

Tebal otot polos yang dilihat dengan menggunakan mikroskop *Scan Dot Slide* perbesaran 100x (per lapang pandang)

K : kelompok kontrol

PI : Kelompok perlakuan 1 yang diberi ekstrak jahe merah 0,3 gram/KgBB

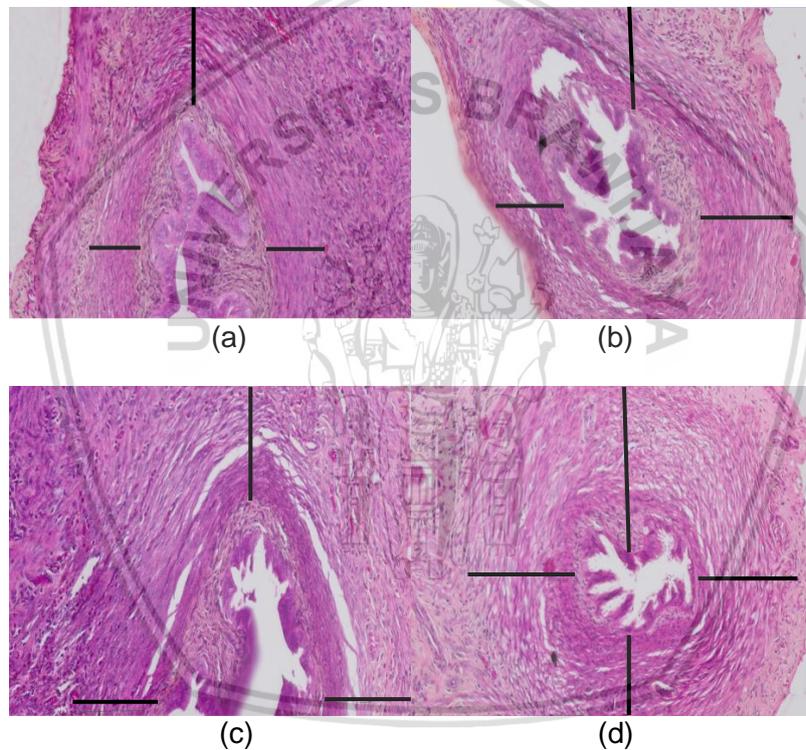
PII : Kelompok perlakuan 2 yang diberi ekstrak jahe merah 0,6 gram/KgBB

PIII : Kelompok perlakuan 3 yang diberi ekstrak jahe merah 1,2 gram/KgBB

Pada gambar 5.1 dapat dilihat bahwa nilai rata-rata ketebalan tuba falopi tertinggi terdapat pada kelompok kontrol (K) sedangkan rata-rata terendah terdapat pada kelompok perlakuan dosis 3 (PIII) dengan pemberian ekstrak jahe merah sebesar 1.2 gr/KgBB.

5.1.2 Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi

Selain menyajikan ketebalan tuba falopi secara keseluruhan, pada penelitian kali ini kami lebih memfokuskan pada ketebalan sel otot polos tuba falopi, dimana sel otot polos tuba falopi inilah yang menjadi salah satu faktor yang berpengaruh dalam transportasi sel telur maupun sperma. Gambaran histopatologi ketebalan sel otot polos tuba falopi pada keempat kelompok penelitian dapat dilihat pada gambar 5.2 dibawah ini.



Gambar 5.2 Pemeriksaan Histopatologi Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi pada Kelompok Kontrol (a), Kelompok Perlakuan Dosis 1 (b), Kelompok Perlakuan Dosis 2 (c), dan Kelompok Perlakuan Dosis 3 (d) dengan Pewarnaan HE, Perbesaran 100x dengan Menggunakan Mikroskop Scan Dot Slide Olympus XC 10

Pada gambar 5.2 menunjukkan hasil pemeriksaan histopatologi mengenai ketebalan sel otot polos tuba falopi pada ke empat kelompok dengan pewarnaan Hematoksin Eosin. Pada gambar tersebut menunjukkan susunan sel otot polos

pada masing-masing kelompok perlakuan yang berbeda, dimana kelompok kontrol terlihat dengan susunan sel otot polos yang rapi dan berdekatan sedangkan pada kelompok perlakuan terlihat susunan yang sudah mulai renggang dan rusak.

5.1.3 Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi pada Tikus Kontrol

Kelompok kontrol (K) adalah kelompok yang disonde dengan menggunakan aquadest sebanyak 1 ml selama 3 siklus estrus dengan intensitas pemberian 2 kali sehari pada pagi hari jam 10.00 WIB dan siang hari jam 14.00 WIB. Pada kelompok tersebut ditemukan ketebalan sel otot polos tuba falopi dengan jumlah rerata ketebalan tinggi jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan dosis 1 (PI) dan dosis 2 (PII), dan rerata ketebalan sel otot polos tuba falopi cenderung lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan dosis 3 (PIII). Didapatkan rata-rata ketebalan sel otot polos tuba falopi adalah sebesar $146.45 \pm 40.3 \mu\text{m}$. Pada gambar 5.3 dapat dilihat rata-rata ketebalan sel otot polos tuba falopi pada kelompok kontrol.

5.1.4 Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi Tikus pada Kelompok Perlakuan Dosis 1 (PI)

Pada kelompok perlakuan dosis 1 (PI), yaitu kelompok yang mendapatkan ekstrak jahe merah selama 3 kali siklus estrus dengan dosis 0,3 gram/KgBB dalam 2 ml aquadest, didapatkan rata-rata ketebalan sel otot polos tuba falopi sebesar $141.53 \pm 12.09 \mu\text{m}$. Pada gambar 5.3 dapat dilihat bahwasanya terdapat penurunan nilai rata-rata ketebalan sel otot polos tuba falopi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.

5.1.5 Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi Tikus pada Kelompok Perlakuan Dosis 2 (PII)

Kelompok perlakuan dosis 2 (PII) adalah kelompok yang mendapatkan ekstrak jahe merah selama 3 siklus etrus secara berturut-turut dengan dosis 0,6 gram/KgBB yang diberikan dalam 2 kali waktu pemberian yaitu pada pukul 10.00 dan 14.00 WIB dalam 2 ml aquadest. Pada gambar 5.3 diperoleh rata-rata ketebalan sel otot polos tuba falopi sebesar $132.46 \pm 10.27 \mu\text{m}$ dimana ini merupakan nilai rata-rata terendah dari semua kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa dosis ekstrak jahe merah 0,6 gram/KgBB paling efektif menurunkan ketebalan sel otot polos tuba falopi jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lain. Pada gambar 5.3 dapat dilihat bahwa terdapat penurunan nilai rata-rata ketebalan sel otot polos jika dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dosis 1.

5.1.6 Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi Tikus pada Kelompok Perlakuan Dosis 3 (PIII)

Kelompok perlakuan 3 (PIII) adalah kelompok yang mendapatkan ekstrak jahe merah selama 3 siklus etrus secara berturut-turut dengan dosis 1,2 gram/KgBB yang diberikan dalam 2 kali waktu pemberian yaitu pada pukul 10.00 dan 14.00 WIB dalam 2 ml aquadest. Pada gambar 5.2 diperoleh rata-rata ketebalan sel otot polos tuba falopi sebesar $159.08 \pm 28.66 \mu\text{m}$ dimana nilai ini merupakan nilai rata-rata tertinggi dari semua kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.

Rata-rata ketebalan sel otot polos tuba falopi yang diukur dari sel sirkuler sampai dengan sel longitudinal pada tikus percobaan dapat dilihat pada tabel dan grafik dibawah ini.

Tabel 5.1 Rata-Rata Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi (μm)

(n)	Kelompok Perlakuan			
	K	P1	P2	P3
1	114.60	133.71	133.03	159.09
2	109.30	152.11	129.23	134.14
3	129.94	142.62	147.43	196.58
4	180.13	153.82	118.85	178.16
5	198.28	125.42	133.76	157.32
Rerata	146.45	141.53	132.46	159.08
$\pm\text{SD}$	40.27	12.09	10.27	28.66

Keterangan:

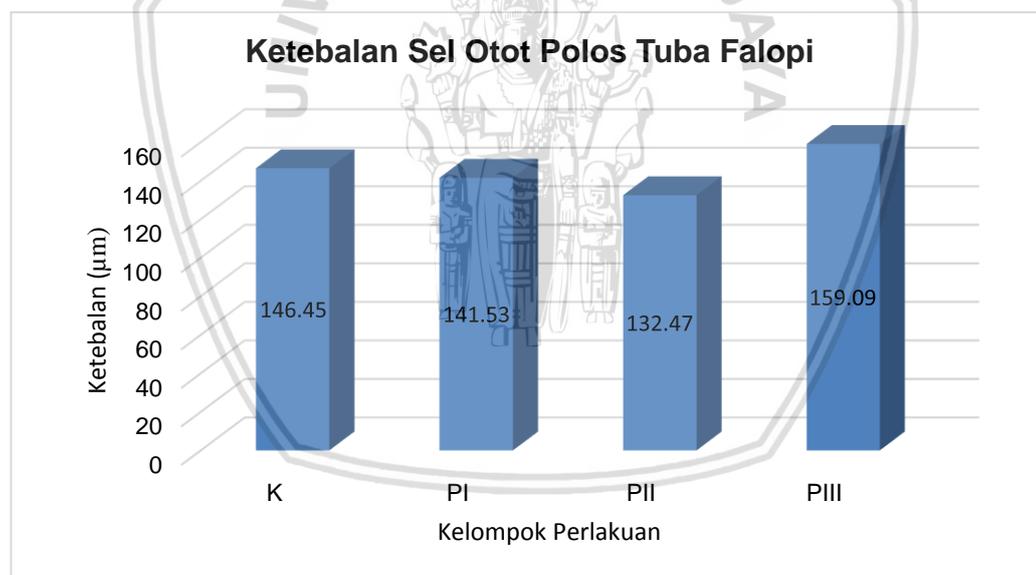
Tebal otot polos yang dilihat dengan menggunakan mikroskop *Scan Dot Slide* perbesaran 100x (per lapang pandang)

K : kelompok kontrol

PI : Kelompok perlakuan 1 yang diberi ekstrak jahe merah 0,3 gram/KgBB

PII : Kelompok perlakuan 2 yang diberi ekstrak jahe merah 0,6 gram/KgBB

PIII : Kelompok perlakuan 3 yang diberi ekstrak jahe merah 1,2 gram/KgBB

**Gambar 5.3 Rata-Rata Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi**

Keterangan:

Tebal otot polos yang dilihat dengan menggunakan mikroskop *Scan Dot Slide* perbesaran 100x (per lapang pandang)

K : kelompok kontrol

PI : Kelompok perlakuan 1 yang diberi ekstrak jahe merah 0,3 gram/KgBB

PII : Kelompok perlakuan 2 yang diberi ekstrak jahe merah 0,6 gram/KgBB

PIII : Kelompok perlakuan 3 yang diberi ekstrak jahe merah 1,2 gram/KgBB

5.2 Analisis Data

Data hasil pemeriksaan ketebalan sel otot polos tuba falopi setelah diberikan perlakuan selama 3 kali siklus estrus dianalisis dengan menggunakan *SPSS Statistics version 17*. Analisis data *bivariate* dalam penelitian ini menggunakan uji normalitas data, homogenitas data, *One Way ANOVA*, *Post Hoc Test* yang terdiri dari 4 kelompok perlakuan dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas

Hasil perhitungan dari pengamatan ketebalan sel otot polos tuba falopi secara histopatologi didapatkan hasil yang bervariasi. Berdasarkan tabel 5.1, hasil rerata ketebalan sel otot polos tuba falopi paling rendah terdapat pada kelompok PII sebesar $132.46 \pm 10.27 \mu\text{m}$, sedangkan hasil rerata tertinggi terdapat pada kelompok PIII sebesar $159.08 \pm 28.66 \mu\text{m}$, hal tersebut menunjukkan bahwa bahan aktif dari ekstrak jahe merah yaitu flavonoid dan shogaol berpengaruh terhadap ketebalan sel otot polos tuba falopi meskipun tidak signifikan.

Tabel 5.2 Nilai Rata-Rata dan SD Ketebalan Sel Otot Polos Tuba Falopi

Descriptives

Ketebalan OPTP kn&kr

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	5	146.4500	40.27349	18.01085	96.4439	196.4561	109.30	198.28
0.9	5	141.5360	12.09187	5.40765	126.5220	156.5500	125.42	153.82
1.8	5	132.4600	10.26865	4.59228	119.7098	145.2102	118.85	147.43
3.6	5	159.0880	28.66105	12.81761	123.5006	194.6754	129.24	196.58
Total	20	144.8835	25.78160	5.76494	132.8173	156.9497	109.30	198.28

Dalam penelitian ini digunakan uji normalitas menggunakan *Uji Shapiro Wilk* karena jenis data yang dihasilkan pada penelitian ini berupa data numerik dan sampel yang digunakan jumlahnya <50. Berdasarkan uji normalitas dan

homogenitas pada table 5.3, data ketebalan sel otot polos tuba falopi terdistribusi dengan normal dan bersifat homogen. Hal ini dibuktikan dari hasil data $p > 0,05$. Setelah didapatkan hasil data yang normal dan homogen, maka dapat dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA*.

Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Data

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ketebalan OPTP kn&kr	.164	20	.164	.956	20	.474

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Ketebalan OPTP kn&kr

Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
.754	3	16	.536

5.2.2 Analisis *One Way ANOVA* (*Analysis of Variance*)

Pada uji *One Way ANOVA*, nilai $p < 0,05$ dianggap signifikan. Apabila terdapat perbedaan yang nyata dilakukan uji lanjutan (*Pos Hoc Test*) menggunakan Uji *Tukey Test*. Berikut ini merupakan hasil uji *One Way ANOVA* dari data ketebalan sel otot polos tuba falopi pada kelompok kontrol dan perlakuan yang dapat dilihat pada gambar 5.4.

Tabel 5.4 Hasil Uji *One Way ANOVA*

ANOVA					
Ketebalan OPTP kn&kr					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1848.854	3	616.285	.915	.456
Within Groups	10780.273	16	673.767		
Total	12629.127	19			

Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA*, didapatkan nilai ketebalan sel otot polos tuba falopi 0,456 (lihat Tabel 5.4). Hasil data tersebut mengartikan bahwa pemberian ekstrak jahe merah belum memberikan pengaruh yang signifikan terhadap ketebalan sel otot polos tuba faopi, tetapi sudah mampu untuk menurunkan ketebalan beberapa mikro meter pada dosis 1 dan dosis 2. Hasil *One Way ANOVA* tidak signifikan, selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* dengan menggunakan Uji *Tukey* untuk mengetahui perbedaan rerata ketebalan sel otot polos pada setiap kelompok.

Tabel 5.5 Hasil Uji *Post Hoc Tukey Homogenous Subsets*

Ketebalan OPTP kn&kr

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05
		1
1.8	5	132.4600
0.9	5	141.5360
Kontrol	5	146.4500
3.6	5	159.0880
Sig.		.395

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Berdasarkan uji *Post Hoc Tukey homogenous subsets* menunjukkan ketebalan sel otot polos tuba falopi pada keempat kelompok, yaitu kelompok K, PI, PII dan PIII tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Sehingga berdasarkan hasil uji statistik diatas, dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak jahe merah sudah mampu menurunkan ketebalan sel otot polos tuba falopi namun tidak memberikan perbedaan yang signifikan secara statistik.

BAB VI

PEMBAHASAN

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui efek pemberian ekstrak jahe merah dalam menurunkan ketebalan sel otot polos tuba falopi pada tikus putih strain wistar betina dewasa. Peneliti menggunakan jahe merah dalam penelitian ini dikarenakan jahe merah banyak terdapat di Indonesia dan masyarakat sering memanfaatkan salah satu jenis tanaman rempah ini dalam kehidupan sehari-hari. Sudah banyak penelitian yang membahas mengenai manfaat jahe merah, diantaranya yaitu sebagai pereda nyeri menstruasi, zat antiinflamasi maupun sebagai zat analgesik pada luka. Namun belum ada penelitian yang membahas mengenai jahe merah sebagai zat yang memiliki pengaruh dalam menurunkan ketebalan sel otot polos tuba falopi. Diketahui bahwa jahe merah memiliki beberapa kandungan penting yang ada didalamnya, diantaranya yaitu kandungan flavonoid dan shogaol yang dapat menghambat produksi prostaglandin (Amita, 2015).

Pada penelitian ini menggunakan 4 kelompok, 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Kelompok percobaan dalam penelitian ini yaitu kelompok kontrol/K (tikus yang tidak mendapat perlakuan jahe merah dan disonde dengan aquadest 1 ml), kelompok perlakuan 1/PI (tikus yang diberi perlakuan ekstrak jahe merah dengan dosis 0,3 gram/KgBB secara peroral dengan menggunakan sonde), kelompok perlakuan 2/PII (tikus yang diberi perlakuan ekstrak jahe merah dengan dosis 0,6 gram/KgBB secara peroral dengan menggunakan sonde), dan kelompok perlakuan 3/PIII (tikus yang diberi perlakuan ekstrak jahe merah dengan dosis 1,2 gram/KgBB secara peroral dengan menggunakan

sonde).

Tuba Falopi terdiri dari 3 lapisan, yaitu lapisan mukosa, lapisan muskularis dan lapisan serosa. Pada penelitian kali ini dilakukan pengukuran ketebalan dari lapisan muskularis/otot polos tuba falopi. Lapisan muskularis merupakan lapisan otot polos yang mengelilingi mukosa, keduanya dibatasi oleh lapisan jaringan ikat yang sangat tipis yaitu otot polos sirkuler sebelah dalam dan otot polos longitudinal sebelah luar, lapisan otot polos ini akan semakin menebal pada tuba yang menuju uterus, kontraksi otot polos ini akan menghasilkan gerakan peristaltik yang berfungsi untuk membantu perpindahan ovum menuju rahim, diantara keduanya terdapat jaringan ikat yang mengandung pembuluh darah yang dikenal sebagai stratum vaskulare, pada bibir infundibulum atau fimbriae otot polos hampir tidak tampak atau hanya soliter. Semakin menuju uterus lapisan otot polos semakin jelas bahkan membentuk dua lapis yang berbeda susunannya, tunika muskularis dengan gerakan peristaltiknya bertugas mendorong oosit atau embrio menuju uterus. Gerakan peristaltik inilah satu-satunya dipengaruhi oleh prostaglandin (El-Mowafi, 2012). Lapisan otot polos menyebabkan tuba mampu bergerak. Pada waktu akan mendekati ovulasi tuba aktif bergerak berirama mendekati ovarium (Yatim, 1996).

Penghitungan ketebalan sel otot polos tuba falopi tikus menggunakan *software Scan Dot Slide* dengan perbesaran 100x. Kemudian ketebalan sel otot polos dihitung dari lapisan sirkuler sampai dengan lapisan longitudinal sel otot polos pada 4 zona lapang pandang (arah jam 12.00, 03.00, 06.00 dan 09.00) dengan pengukuran manual. Dalam pengukuran ketebalan sel otot polos ini tidak ditemukan kendala yang berarti meskipun hasil pengukuran bersifat subjektif, tetapi peneliti melakukan pengukuran dengan adanya bimbingan dari ahli

sehingga tingkat kesalahan pengukuran minimal (Lyons *et al.*, 2006).

Pada penelitian ini, kelompok perlakuan yang diberi ekstrak jahe merah mengalami penurunan rerata ketebalan sel otot polos tuba falopi pada dosis 1 (PI) dan 2 (PII), hal ini diduga karena adanya efek dari flavonoid dan shogaol yang dapat menghambat sintesis dari enzim COX-2 sehingga produksi prostaglandin dapat ditekan. Prostaglandin berfungsi dalam motilitas tuba falopi, dimana hal ini berperan penting untuk transportasi ovum, sebagai saluran untuk sperma bertemu dengan ovum dan sebagai tempat terjadinya pembuahan.

6.1 Ketebalan Lapisan Sel Otot Polos Tuba Falopi Tikus

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) terhadap tebal sel otot polos tuba falopi pada tikus putih strain wistar betina (*Rattus norvegicus*). Hasil uji statistik menggunakan *One Way ANOVA*, didapatkan hasil $p\text{-value } 0.456 > \alpha(0.05)$ yang artinya tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok, namun hasil analisis deskriptif menunjukkan kecenderungan adanya penurunan ketebalan sel otot polos tuba falopi dengan adanya pemberian ekstrak jahe merah terutama pada kelompok perlakuan dosis 2 (PII). Tetapi pada kelompok perlakuan dosis 3 (PIII), ketebalan sel otot polos tuba falopi mengalami peningkatan, dan nilai ketebalannya lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Pada kelompok perlakuan dosis 1 (PI) dan dosis 2 (PII) menunjukkan hasil ketebalan rata-rata yaitu sebesar $141.53 \pm 12.09 \mu\text{m}$ dan $132.46 \pm 10.27 \mu\text{m}$. Dimana nilai tersebut menunjukkan adanya penurunan ketebalan sel otot polos tuba falopi jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Selain mengalami penurunan ketebalan, susunan dari sel otot yang terdapat pada tuba juga

mengalami kerusakan berupa susunan sel yang terpisah seperti yang terlihat pada gambar 5.2(b) dan 5.2(c).

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jahe merah selama 3 siklus estrus secara berturut-turut mampu menurunkan ketebalan sel otot polos tuba falopi meskipun secara tidak signifikan. Penurunan ketebalan tuba falopi ini disebabkan adanya kandungan flavonoid dan shogaol yang terdapat pada rimpang jahe merah. Komponen fenol yang ada pada flavonoid diduga dapat menghambat produksi dari COX maupun LOX dengan mengurangi pengeluaran dari asam arakhidonat. Tetapi mekanisme yang tepat mengenai flavonoid mana yang dapat menghambat produksi kedua enzim tersebut belum dapat diketahui dengan pasti. Flavonoid bekerja dengan menghambat *cytosolic* dan membrane *tyrosine kinase*. Integral membrane protein seperti *tyrosine 3-monooxygenase kinase* memiliki fungsi yang bervariasi, seperti katalis enzim, transport antar membrane, transduksi sinyal yang berfungsi sebagai reseptor hormon dan faktor pertumbuhan, serta sebagai transfer energi untuk sintesis ATP. Menghambat protein ini akan menyebabkan terhambatnya pula pertumbuhan dan proliferasi sel. *Tyrosine kinase* memiliki kunci peran dalam mengatur sinyal transduksi yang mengatur dari proses proliferasi sel. Dengan terhambatnya pertumbuhan dan proliferasi sel maka dalam kurun waktu tertentu sel akan mengecil dan mengalami atrofi, sehingga ketebalan sel otot polos akan berkurang (Nijvedt *et al.*, 2014).

Penurunan ketebalan sel otot polos tuba falopi disebabkan karena kontraksi yang berkurang. Bila otot tidak digunakan selama waktu yang lama maka kecepatan penghancuran protein kontraktile dan jumlah miofibril yang timbul akan berlangsung lebih cepat dari pada kecepatan penggantinya, sehingga otot

mengalami atrofi. Bila suatu otot kehilangan suplai sarafnya, maka otot itu tidak lagi menerima sinyal kontraksi yang dibutuhkan untuk mempertahankan ukuran otot yang normal. Atrofi menggambarkan pengurangan komponen struktur sel, tetapi akhirnya mempengaruhi keseimbangan antara sintesis dan degradasi. Sintesis yang berkurang, peningkatan katabolisme, maupun keduanya akan menyebabkan atrofi (Kumar *et al.*, 2007).

Kandungan jahe merah selanjutnya adalah shogaol, shogaol juga memiliki efek yang sama dalam hal sebagai zat antiinflamasi. Semua senyawa yang diuji pada jahe merah dapat mengurangi peningkatan prostaglandin yang tergantung pada konsentrasi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Li *et al.* (2012), efek penghambatan prostaglandin terkuat terdapat pada kelompok yang diberikan 6-shogaol pada 14 μM dengan penghambatan sebesar 48,9%. Baik 6-dehydroshogaol dan 1-dehydro-[6]-gingerdione secara signifikan dapat menekan ekspresi protein sintase nitrat oksida yang diinduksi (iNOS) dan cyclooxygenase-2 (COX-2), tergantung pada konsentrasi yang diberikan (Li *et al.*, 2012).

Sebagai zat antiprostaglandin, jahe merah memiliki cara kerja yang hampir sama dengan obat-obatan NSAID dalam menurunkan reaksi inflamasi. Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Hunter *et al.* (1983) secara *in vitro*, dimana inhibitor COX-2 seperti endometasin (jenis NSAID) dapat menurunkan kontraktilitas sel otot polos tuba falopi dengan menghambat produksi prostaglandin. Begitupun dengan ETYA (*eicosatetraynoic acid*), inhibitor yang memiliki komponen untuk menghambat enzim COX dan LOX. Setelah diberikan inhibitor, kontraktilitas tuba falopi dapat dikembalikan dengan memberikan sejumlah $\text{PGF}_{2\alpha}$, dan ketika ovulasi kadar $\text{PGF}_{2\alpha}$ kembali meningkat (Hunter *et al.*, 1983).

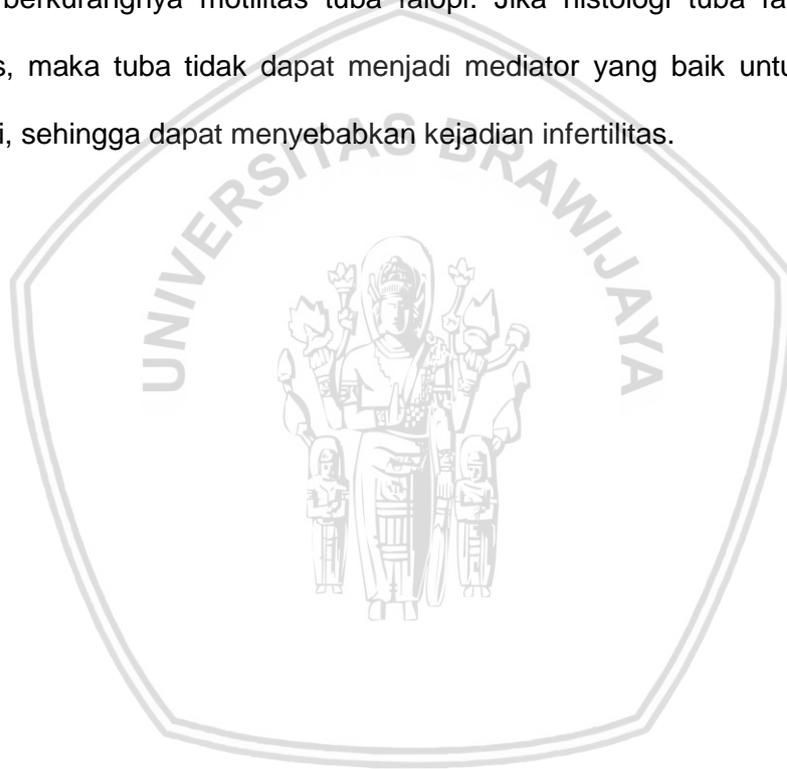
Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Lindblom and Enderson (1985) juga menunjukkan bahwa indometasin dapat menghambat kontraktilitas dari tuba falopi secara spesifik dan non toksik dengan menghambat aktivitas dari asam arakhidonat. Jika dibandingkan dengan ETYA, indometasin memiliki efek sedikit kurang poten, yang mana hal ini berdasarkan penelitian yang dilakukan pada arteri umbilical manusia. Setelah perlakuan, objek penelitian diberikan $PGF_{2\alpha}$ dengan konsentrasi 10 ng/ml, dan kontraktilitas dari kedua lapisan sel otot polos tuba falopi kembali normal seperti sebelum perlakuan, dimana kontraktilitas diukur dengan menggunakan metode RIA (Lindbolm and Enderson, 1985).

Untuk hasil kelompok perlakuan dosis 3 (PIII) diperoleh data ketebalan sel otot polos sebesar $159.08 \pm 28.66 \mu\text{m}$, dimana nilai ini merupakan nilai tertinggi dari semua kelompok. Meskipun memiliki nilai yang tinggi secara analisis statistik, tetapi berdasarkan analisis mikroskopis terlihat bahwa susunan sel otot polos tuba falopi yang terdapat pada kelompok PIII cenderung lebih renggang susunannya jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Susunan yang renggang inilah yang dapat menjadi salah satu faktor yang mengakibatkan tingginya ketebalan sel otot polos tuba falopi. Meskipun memiliki ketebalan yang tinggi, tetapi dengan adanya susunan sel yang tidak normal atau tidak sesuai dengan kondisi seharusnya tentu saja hal tersebut dapat mengakibatkan gangguan kontraktilitas tuba falopi.

Dalam penelitian ini terdapat keterbatasan yang memungkinkan dapat mempengaruhi hasil dari penelitian, dimana dalam pengukuran ketebalan sel otot polos tuba falopi ini dilakukan sendiri oleh peneliti sehingga dapat menimbulkan kecenderungan untuk mempengaruhi hasil penelitian. Hasil akan lebih maksimal jika pengukuran dilakukan secara *double blind* oleh tenaga laboratorium yang

bertugas maupun orang diluar peneliti.

Jadi dengan adanya penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya, mengkonsumsi jahe merah dalam dosis tertentu dapat memiliki kemungkinan untuk menurunkan ketebalan maupun kerusakan dari sel otot polos tuba falopi. Dengan adanya penurunan ketebalan sel otot polos tuba falopi, maka tuba falopi tidak dapat menjalankan fungsinya dengan baik sebagai mediator hasil konsepsi dengan berkurangnya motilitas tuba falopi. Jika histologi tuba falopi menjadi patologis, maka tuba tidak dapat menjadi mediator yang baik untuk terjadinya konsepsi, sehingga dapat menyebabkan kejadian infertilitas.



BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

7.1.1 Pemberian ekstrak jahe merah pada kelompok perlakuan dosis 1 (PI) dan dosis 2 (PII) tidak menunjukkan adanya efek pengurangan tebal sel otot polos yang signifikan dengan kelompok kontrol, namun hasil analisis deskriptif menunjukkan kecenderungan adanya penurunan ketebalan sel otot polos tuba falopi terutama pada kelompok perlakuan dosis 2 (PII).

7.1.2 Pemberian ekstrak jahe merah pada kelompok perlakuan dosis 3 (PIII) tidak menunjukkan adanya penurunan ketebalan sel otot polos jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, justru ketebalannya semakin meningkat secara statistik, hal ini dapat dikarenakan struktur atau susunan sel otot polos tuba falopi yang dilihat secara mikroskopis menunjukkan susunan yang abnormal sehingga sel mengalami kerenggangan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol yang memiliki susunan sel yang rapat dan teratur.

7.2 Saran

7.2.1 Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan penelitian sejenis dengan rentan dosis ekstrak jahe merah yang lebih baik lagi sehingga harapannya dapat menghasilkan analisis statistik yang signifikan antar kelompok dan menemukan dosis optimal.

7.2.2 Untuk penelitian selanjutnya dapat dicoba dengan menggunakan metode lain sehingga dapat diperoleh hasil penelitian yang maksimal dan sesuai dengan harapan.

7.2.3 Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya melakukan pengukuran terhadap jumlah sel epitel sekretorik pada tuba falopi agar dapat diperoleh hasil yang lebih komprehensif.



Daftar Pustaka

- Achmad, S.A. 2008. *Ilmu Kimia dan Kegunaan: Tumbuh-Tumbuhan Obat Indonesia*. Bandung: ITB. p. 329.
- Ahsan, Hakim B.A, Tamar M. 2012. *Faktor Risiko yang Memengaruhi Keterlambatan Konsepsi (Infertilitas) Pasangan Suami Istri pada Laki-Laki di Kecamatan Palu Utara Kota Palu (KTI)*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Antifertilitas*. Jakarta : Adabia Press.
- Akpantah A.O., Oremosu A.A., Moronha C.C., Ekanem J.B., Okanlawon A.O. 2005. *Effect of Garcinia Kola Seed Extracts on Ovulation, Oestrous Cycle and Foetal Development in Cyclic Sprague Dawley Rats*. Nig. J Physiol. Sci. 20 (1-2):58-62.
- Amita, H. 2015. *Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Pegagan (Centella asiatica urban) dan Beluntas (Pluchea indica L. urban) terhadap Gambaran Histologi Uterus dan Oviduk Tikus Putih (Rattus norvegicus) Betina*. Skripsi. tidak diterbitkan. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang. p. 67-77.
- Anwar R. 2005. *Morfologi dan Fungsi Ovarium*. Bandung: Bagian Obstetri dan Ginekologi FK UNPAD.
- Balen A.H. 2011. *Infertility in Practice 4th Edition*. London: CRC Press. Hal: 281-290.
- Barnes RB., Rosenfield RL. 2000. *Effect of Follicle-Stimulating Hormone on Ovarian Androgen Production in a Woman with Isolated Follicle-*

Stimulating Hormone Deficiency. N Engl J Med 1997.

Brooks, P et al. 1999. *Interpreting the Clinical Significance of the Differential Inhibition of Cyclooxygenase-1 and Cyclooxygenase-2*. Rheumatology 1999;38:779-788. British Society for Rheumatology.

Cavalcanto T.D. 2007. *Hormone Regulated Inflammation of the Immature Rat Uterus in Response TO Leukocyte Infiltration and MMP Activation*. Villanova University Journal of ProQuest Dissertation Publishing 1445358. ISBN 97805 49118718.74P. Diakses 04 Mei 2017.

Danforth D.R. *Principles of Human Physiology: Male and Female Reproduction*. Dikutip dari <http://www-obgyn.med.ohio-state.edu/Physiology%20312%20Handouts%202004.doc> pada tanggal 27 Mei 2017.

DeCherney A.H., Pernoll M.L. 1994. *Current Obstetric & Gynecologic: Diagnosis & Treatment*. Edisi ke-8. Lange Medical Book: 126-127.

Djuwantono T., Hartanto B., Wiryawan P. 2008. *Step By Step Penanganan Endokrinologi Reproduksi dan Fertilitas Dalam praktik Sehari-hari*. Jakarta: Sagung.

Duffy D.M., Stouffer R.L. 2001. *The Ovulatory Gonadotropins Surge Stimulates Cyclooxygenase Expression and Prostaglandin Production by the Monkey Follicle*. *Molecular Human Reproduction*. 7(8):731-739.

El-Mowafi, DM. Fallopian Tube. (Online) 2018. http://www.gfmer.ch/International_activities_En/El_Mowafi/Fallopian_tube.htm

Ferrandiz M.L., Alcaraz M.J. 1991. *Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids*. *Agents Actions* 32 (3): 283-288.

- Fouda A.M.M., Berika M.Y. 2009. *Evaluation of the Effect of Hydroalcoholic Extract of Zingiber officinale Rhizomes in Rat Collagen-induced Arthritis*. Basic Clinical Pharmacology & Toxicology. Mansoura University. Egypt. Vol 104 hal. 262-271.
- Fritz M.A. dan Speroff L. 2010. *Clinical Gynecologic Endocrinology & Infertility*. 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. ISBN: 9780781779685.
- Gomperts B.D., Baldwin J.M., Micklem K.J. 1983. *Rat Mast Cells Permeabilized with Sendai Virus Secrete Histamine in Response to Ca²⁺ Buffered in the Micromolar Range*. Biochemistry Journal 210 (3) hal. 737-745.
- Hadibroto I. 2013. *Buku Saku patofisiologi*. Jakarta: EGC.
- Hapsah dan Rahmawati N. 2007. *Tanaman Obat* <http://eccourse.usu.ac.id/course/course.php> diakses pada tanggal 4 Mei 2017.
- Heffner, Linda J., Schust, Danny J. 2006. *At a Glance Sistem Reproduksi Edisi Kedua*. Jakarta : Erlangga.
- Hestiantoro A., Wiweko B., Pratama G., Yusuf D. 2013. *Konsensus Penanganan Infertilitas*. Jakarta: HIFERI, PERFITRI, IAUI, POGI.
- Hunter R., Cook B & Poyser N. 1983. *Regulation of Oviduct Function in Pigs by Local Transfer of Ovarian Steroids and Prostaglandins: A Mechanism to Influence Sperm Transport*. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 14:225.
- Jungwrith A., Aleksander G., Herman T., Thorsten D., Zsolt K., Gert D., Csilla K. 2012. *Guidelines European Association of Urology Guidelines on Male Infertility*. European Urology 62(2012) 324-332. Published by Elsevier

B.V.

Kamath M. Dan Bhattacharya S. 2012. *Best Practice Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. hal. 729-38.

Katzung B. 2001. *Farmakologi Dasar Dan Klinis*. Jakarta: Salemba Medika. hal 671-676.

Knight, O.M. 2014. *Characterizing the Role of Eicosaonoids in Maturation-Inducing Sterois-Mediated Ovulation and Spawning in the Zebrafish (Danio rerio)*. Thesis. Tidak diterbitkan, Integrative Biology University of Guelph, Ontario.

Koolhaas, J.M., 2010, *The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals 8th Ed*, John Hopkins University Press, Baltimore, 311.

Kumar V., Cotran R.S., Robbins S.L. 2007. *Buku Ajar Patologi* 7nd ed , Vol. 1. Awal Prasetyo, dkk (penerjemah). Jakarta : EGC.

Kumbhare M.T. dan Sivakumar. 2011. *Anti-inflammatory and Antinociceptive Activity of Pods of Caesalpinia Pulcherrima*. Journal of Applied Pharmaceutical Science. Vol. 01 (07); 2011: 180-184.

Lestari R. 2002. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Jahe Merah (Zingibr Officinale) sebagai Analgesik dan Antiinflamasi pada Tikus (Rattus novergicus) Strain Wistar*. [skripsi]. Malang; Uniersitas Brawijaya.

Li, X., Kristine C.Y., Van H.T., Li Y., Colin C.D., Basil D.R., Alison K.H. 2013. *Attenuation of Proinflammatory Responses by S-[6]- Gingerol via Inhibition of ROS/NF-Kappa B/COX2 Activation in HuH7 Cells*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2013:1-8.

- Lindblom B and Andersson A. 1985. *Influence of Cyclooxygenase Inhibitors and Arachidonic Acid on Contractile Activity of the Human Fallopian Tube*. *Biology of Reproductions* 32, 475-479. Department of Obstetrics and Gynecology University of Goteborg Sweden.
- MacNee W. dan Rahman I. 2001. *Is oxidative stress central to the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease?*. *Trends Mol Med*; 7: 55–62.
- Manju V dan Nalini N. 2005. *Chemopreventive efficacy of ginger, a naturally occurring anticarcinogen during the initiation, post initiation stages of 1, 2 dimethyl hydrazine- induced colon cancer*. *Clin Chim Acta*. Vol 358 hal. 60- 67.
- Marcondes F.K., Bianchi F.J., Tanno A.P. 2002. *Determination of the Estrous Cycle Phases at Rats: some Helpfu Considerations*. *Braz J Biol*. Nov;62(4A):609-14.
- Marks, F. dan Furstenberger, G.1999. *Prostaglandins, Leukotriens, and Other Eicosanoids:from Biogenesis to Clinical Application*. Wiley-VCH, Toronto. p. 199-203.
- McMahon S.B dan Koltzenburg M. 2006. *Textbook of Pain, 5 th ed p.8-19*. China: Churchill Livingstone.
- Missmer S.A., Hankinson S.E., Spiegelman D., Barbieri R.L., Marshall L.M., Hunter D.J. 2004. *Incidence of Laparoscopically Factors*. *Am J Epidemiol*: 160: hal. 784-96.
- Mueller J. 2005. *Bioflavonoids: Natural Relief for Allergies and Asthma*. (Online), (www.worldwidehealthcenter.net/articles-336.html diakses tanggal 2 Januari 2017).
- Mukhlisa F. 2005. *Temu Temuan dan Emon Empon Budidaya dan Manfaatnya*.

Yogyakarta: Kanisius.

- Murray J.F., Broaddus V.C., Martin T.R., King T.E., Schraufnagel D.E., Mason R.J., Nadel J.A. 2010. *Mason: Murray and Nadel's Textbook of Respiration Medicine, 5th edition*. Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Myres P, Armitage D. 2004. *Rattus norvegicus animal diversiy*. (Online), (<http://animaldiversity.umuz.umich.edu/site/accounts/information/Rattusnorvegicus.html>). Diakses tanggal 5 Mei 2017.
- Narayana K.R., Reddy, Chaluvadi. 2001. *Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential*. Indian Journal Pharmacology.33: 2-16.
- Nijveldt R. J., Nood E., Hoorn D.E.C., Boelens P.G., Norren K., Leeuwen P.A.M. 2001. *Flavonoids: A Review of Probable Mechanisms of Action and Potential Applications*. American Journal of Clinical and Nutrition 74: 418-425.
- Paccola C.C., Resende C.G., Stumpp T., Miraglia S.M., Cipriano I. 2013. *The Rat Estrous Cycle Revisited: A Quantitative and Qualitative Analysis*. Laboratory of Development Biology, Federal University of Sao Paulo, Brazil. Anim. Reprod. V.10.n 4, p.677-683.
- Paimin F.B., Murhananto. 2008. *Budidaya, Pengolahan, Perdagangan Jahe*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Panda B.B, K., Gaur M.L., Kori L.K., Tyagi R.K., Nema C.S., Sharma A.K., Jain. 2009. *Anti-inflammatory and Analgesic Activity of Jetropha Gossypifolia in Experimental Animal Models*. Global Journal of Pharmacology. Vol 3 : 01-05.
- Partodihardjo S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta : Mutiara Sumber Widya.

- Purba I.H. 2011. *Kecemasan Pasangan Usia Subur Terhadap Infertilitas Sekunder di Dusun XI Desa Pasar Melintang Kecamatan Lubuk Pakam Tahun 2010. (KTI)*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Purwanto, B. 2013. *Herbal dan Keperawatan Komplementer*. Yogyakarta: Nuha Medika. p.200-205.
- Ravindran P.N dan Nirmal B.K. *Ginger: The genus Zingiber*. USA: CRC Press, 2005. hal. 87-97.
- RCOG. 2004. *Fertility: Assessment and Treatment for People with Fertility Problems*. London: RCOG Press ISBN 1-900364. NCBI Bookshelf. Diakses tanggal 5 April 2017.
- Riskesmas. 2013. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Robak J. dan Gryglewski R.J. 1996. *Bioactivity of flavonoids*. Polish Journal of Pharmacology 48(6): 555-564.
- Robbins S.L., Cotran R.S., Kumar V. 2007. *Buku Ajar Patologi Edisi VII*. Awal Prasetyo, dkk (penerjemah). Jakarta: EGC.
- Sabina E.P., Rasool M.K., Mathew L., Ezil R.P., Indu H. 2010. *6-Shogaol Inhibits Monosodium Urate Crystal-Induced Inflammation - An in Vivo and in Vitro Study*. J. Food and Chemical Technology 48: 229-235.
- Saifuddin A.B., Rachimhadhi T., Wiknjosastro G.H. 2011. *Ilmu Kandungan*. Jakarta: Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo.
- Saragih. 2014. *Analisa Faktor-Faktor Penyebab Infertilitas di RS Jejaring Departemen OBGIN FK USU Periode Januari 2012-Desember 2013*. Medan: FK USU.
- Scholz H., Yndestad A., Damas J.K. 2003. *8-Isoprostane Increases Expression of Interleukin-8 in Human Macrophages through Activation of Mitogen-*

Activated Protein Kinases. Cardiovasc Res; 59: 945–954.

Sen S et al., 2010. *Analgesic and anti-inflammatory herbs: a potential source of modern medicine.* IJPSR, 2010; Vol. 1 (11): 32-44 ISSN: 0975-8232.

Shannon L.B., Michael V.W., Sadie L.D., Robert A.T., 2012. *Mouse Estrous Cycle Identification Tool and Images.* DOI: 10.1371/journal.pone.0035538.

Solimun. 2001. *Metode Penelitian Kuantitatif.* Bandung: Alfabeta.

Stright B.R. 2005. *Panduan Belajar Keperawatan Ibu-Bayi Baru Lahir Edisi 3.* Jakarta: EGC.

Susetyarini E. 2009. *Efek Senyawa Aktif Daun Beluntas Terhadap Kadar Testosteron Tikus Putih (Rattus norvegicus) Jantan.* GAMMA. Vol.5. No.1.

Susila, A.H. 2012. *Efek Ekstrak Jahe (Zingiber officinale Rosc.) Terhadap Penurunan Tanda Inflamasi Eritema pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Wistar dengan Luka Bakar Derajat II.* Skripsi. Tidak diterbitkan. Malang: Universitas Brawijaya.

Treuting, Piper M., Dintziz, Suzanne M. 2012. *Comparative Anatomy And Histology A Mouse and Human Atlas.* United States of America : Academic Press

Triwani. 2013. *Faktor Genetik sebagai Salah Satu Penyebab Infertilitas Pria.* Palembang: Bagian Biologi Medik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Program Studi Biomedik Program Pascasarjana Universitas Sriwijaya Palembang.

Umami R., Made D.P., Winarsih, Sri., 2014. *Pengaruh Vitamin C dan E terhadap Histologi Tuba falopi pada Tikus yang Dipapar MSG.* Jurnal Kedokteran Brawijaya. Vol. 28. No. 2.

Wilmana P.F., dan Gan S.G., 2007. *Analgesik-Antipiretik Analgesik Anti- Inflamasi*

Nonsteroid dan Obat Gangguan Sendi Lainnya. Dalam: Gan, S.G., Editor. Farmakologi dan Terapi. Edisi 5. Jakarta: Gaya Baru.

WHO. 2000. *WHO Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple*. Cambridge: Cambridge University Press 2000.

Widiartini W., Siswati E., Setiyawati A., Rohmah I.M., Prastyo E. 2013. *Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (Rattus norvegicus) Tersertifikas Dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium*. Jurnal Penelitian: Universitas Diponegoro.

Yang C., Yang Z., Zhang M. *Hydrogen Sulfide Protects Against Chemical Hypoxia- Induced Cytotoxicity and Inflammation in Hecat Cells through Inhibition of ROS/NF- B/COX-2 Pathway*. PLoS ONE ;6(7). Diakses 03 Juni 2017.

Yatim, Wildan. 1996. *Histologi*. Bandung: PT Tarsito.