

**EFEK FITOESTROGEN EKSTRAK BUAH KURMA (*Phoenix dactylifera*) RUTHAB TERHADAP TEBAL ENDOMETRIUM MENCIT (*Mus musculus*) BETINA**

**SKRIPSI**



**OLEH:**

**HUSNIYA FARADINA**

**H91214024**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI UIN SUNAN AMPEL SURABAYA**

**SURABAYA**

**2018**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Husniya Faradina

Nim : H91214024

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2014

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul:

**Efek Fitoestrogen Ekstrak Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) Ruthab Terhadap Tebal Endometrium Mencit (*Mus musculus*) Betina.**

Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 01 Agustus 2018

  
**METERAI  
TEMPEL**  
KEDAFF216109747  
**6000**  
ENKOR SURABAYA  
Husniya Faradina

## PERSETUJUAN PEMBIMBING

Setelah memeriksa dan memberikan arahan terhadap skripsi yang ditulis oleh:

Nama : Husniya Faradina

Nim : H91214024

Program Studi : Biologi

Yang berjudul: "**AKTIFITAS FITOESTROGEN KURMA (*Phoenix dactylifera*) RUTHAB TERHADAP DIAMETER UTERUS MENCIT (*Mus musculus*) BETINA**", saya berpendapat bahwa skripsi tersebut dapat diajukan untuk disidangkan.

Surabaya, 05 Juli 2018

Pembimbing I



Risa Purnamasari, S. Si, M. Si

NIP. 201409002

Pembimbing II



Eko Teguh Pribadi, SKM., M. Kes

NIP. 198001152014031001

**EFEK FITOESTROGEN EKSTRAK BUAH KURMA (*Phoenix dactylifera*)  
RUTHAB TERHADAP TEBAL ENDOMETRIUM MENCIT (*Mus musculus*)  
BETINA**

Disusun oleh  
Husniya Faradina  
H91214024

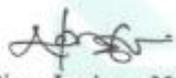
Telah dipertahankan didepan dewan penguji pada  
tanggal 18 Juli 2018 dan dinyatakan telah memenuhi  
syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si)

**Susunan Dewan Penguji**

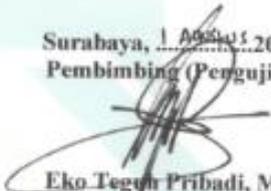
Surabaya, 31 Juli 2018  
Pembimbing (Penguji) I

  
Risa Purnamasari, M.Si  
NUP. 201409002

Surabaya, 1 Agustus 2018  
Penguji III

  
Nova Lusiana, M.Keb  
NIP. 198111022014032001

Surabaya, 1 Agustus 2018  
Pembimbing (Penguji) II

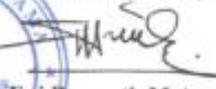
  
Eko Teguh Pribadi, M.Kes  
NIP. 198001152014031001

Surabaya, 1 Agustus 2018  
Penguji IV

  
Dr. dr. Hj. Siti Nur Asiyah, M.Ag  
NIP.197209271996032002

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UTN Surab Ampel Surabaya



  
Dr. Eni Purwati, M.Ag  
NIP. 196542211990022001



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA  
PERPUSTAKAAN

Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300  
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : HUSNIYA FARADINA  
NIM : H9124024  
Fakultas/Jurusan : SAINTEK / BIOLOGI  
E-mail address : farasnahusni36@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

Skripsi  Tesis  Desertasi  Lain-lain (.....)

yang berjudul :

EFEK FNOETROGEN EKSTRAK KUBRA (Phoenix dactylifera) PURNAB  
TERHADAP TEBAL ENDOMETRIUM MERKAT (Mus musculus) BETINA

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 02 Agustus 2018

Penulis

( Husniya Faradina )













# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Obat tradisional sudah banyak dikenal dan banyak digunakan masyarakat sebagai pemenuh kebutuhan terhadap kesehatan. Penggunaan obat tradisional umumnya banyak diutamakan sebagai pencegahan atau preventif. Di era sekarang ini telah banyak berdiri industri farmasi dan industri jamu yang memproduksi obat tradisional untuk memenuhi permintaan masyarakat. Salah satu tumbuhan yang dikenal serta banyak dikonsumsi oleh masyarakat adalah buah kurma.

Di Indonesia infertilitas merupakan masalah kesehatan meskipun tidak berpengaruh pada aktivitas fisik, namun memiliki dampak besar bagi sebagian besar wanita. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan kasus infertil secara global mencapai 8%-10% atau setara dengan 50-80 juta pasangan (Parandi *et al.*, 2012; Triwani, 2013). Kandungan fitoesterol dan fitoestrogen yang terkandung dalam buah kurma dapat memiliki efek yang menguntungkan pada reproduksi.

Keberhasilan reproduksi ditentukan oleh bagaimana upaya pengolahan reproduksi itu sendiri, misalnya mengkonsumsi makanan yang baik, lingkungan cocok, tidak ada gangguan hormonal, dan terhindar dari penyakit. Banyak alternatif yang sudah dilakukan dalam meningkatkan efisiensi organ reproduksi salah satunya dengan pemberian hormon secara eksogen dengan harapan dapat meningkatkan produksi hormon endogen. Substitusi estrogen dari luar tubuh dapat menimbulkan cacat fisik, pendarahan, ketergantungan dan resiko kanker payudara (Beral, 2003).

Estrogen adalah hormon kelamin utama pada wanita. Hormon estrogen telah banyak digunakan sebagai keperluan terapi dan sebagai kontrasepsi. Hormon ini berfungsi menstimuli pertumbuhan dan pemeliharaan fungsi sistem genital pada wanita. Hormon ini berperan untuk mengatur sekresi hormon-hormon gonadotropin oleh hipofisis dan ikut serta dalam beberapa aspek proses metabolisme di tubuh (Vries dkk, 2006). Selain itu, hormon estrogen juga memiliki peran dalam diferensiasi sel, jaringan reproduksi, perlindungan terhadap osteoporosis, dan sebagai hormon kardioprotektif yang bertindak dengan meningkatkan kadar HDL dan menurunkan LDL (Jordan, 2004). Mekanisme kerja hormon estrogen diperantarai oleh reseptor estrogen, yang termasuk dalam golongan reseptor inti (Matthew & Gustafsson, 2003). Oleh sebab itu, adanya alternatif yang aman dan murah sangat diperlukan, salah satunya dengan pengobatan secara alami. Penggunaan bahan alami yang memiliki kandungan hormon atau fitohormon mulai banyak dikembangkan salah satunya yaitu fitoestrogen.

Fitoestrogen adalah suatu senyawa bersifat estrogenik yang berasal dari tumbuhan (Whitten *and* Pattisaul, 2001). Fitoestrogen digunakan sebagai alternatif terapi silih hormon (TSH) untuk membantu penyesuaian tubuh dan mengurangi gejala perubahan hormonal yang drastis pada masa menopause, serta dapat digunakan dalam jangka panjang hingga tubuh dapat beradaptasi pada tingkat hormonal yang baru (Badziad, 2003). Hormon estrogen mempengaruhi pertumbuhan, perkembangan, pematangan dan fungsi saluran reproduksi serta diferensiasi seksual dan perilaku (Balthazart *et al.*, 2009).

Fitoestrogen bervariasi pada struktur, potensi estrogenik, dan ketersediaan pada sumber makanan seperti kedelai, sereal, dan kecambah (Nagao *et al.*, 2001). Tiga jenis fitoestrogen yang paling umum dihasilkan oleh tanaman adalah isoflavon, lignan, dan

coumestans. Isoflavon merupakan senyawa dengan kandungan fitoestrogen cukup tinggi dan banyak dimanfaatkan. Isoflavon terdapat pada legume, seperti kedelai, padi, kentang, sayur dan buah. Senyawa isoflavon umumnya berupa senyawa kompleks atau konjugasi dengan ikatan glukosida. Ketika proses pengolahan, melalui proses fermentasi ataupun non-fermentasi akan mengalami transformasi, terutama melalui proses hidrolisa sehingga dapat diperoleh senyawa isoflavon bebas. Senyawa isoflavon ini terdiri dari genistein, daidzein dan glisitein (Pawiraharsono, 2007). Isoflavon paling utama adalah genistein dan daidzein (Kouki *et al.*, 2003; Faber & Hughes, 1993). Struktur isoflavon sangat mirip dengan estrogen. Meskipun dapat mengikat ER $\alpha$  dan ER $\beta$  namun afinitasnya lebih rendah dibandingkan dengan 17 $\beta$ -estradiol. Pengikatan afinitas genistein untuk ER $\alpha$  adalah 4% sedangkan ER $\beta$  adalah 87%. Pada daidzein untuk ER $\alpha$  adalah 0,1 % sedangkan ER $\beta$  adalah 0,5%.

Penelitian tentang pengaruh fitoestrogen dari buah kurma masih jarang dilakukan, buah kurma kering memiliki kandungan isoflavoids 329,5 mg per 100 g, mengaktifkan indung telur dan membantu pembentukan sel telur (Basith, 2008 dalam Lusiana, 2017). Berdasarkan penelitian mengenai efek fitoestrogen pada tanaman kurma, menunjukkan bahwa kurma dapat mempengaruhi organ reproduksi betina (Moshfegh *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan Lusiana (2017) membuktikan bahwa senyawa fitoestrogen pada buah kurma memberikan pengaruh terhadap sinkronisasi siklus estrus pada mencit. Purwoko dan suyanto (2001) menjelaskan bahwa fitoestrogen memiliki manfaat antiosteoporosis. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Raden (2011) membuktikan bahwa ekstrak pegagan dapat meningkatkan proliferasi epitel pada dinding vagina. Jefferson *et al.* (2002) fitoestrogen adalah dekomposisi alami yang terdapat pada

tumbuhan dan memiliki banyak kesamaan dengan estradiol. Konsumsi estrogen memiliki efek yang aman dibandingkan dengan estrogen sintesis atau obat hormonal pengganti (*hormonal replacement therapy/HRT*) (May, 1971).

Primiani (2013) menjelaskan pemberian tepung tempe digunakan sebagai hormon estrogen alami dapat meningkatkan proliferasi endometrium dan glandula uterine pada premenopause. Penelitian pada mencit yang diovariectomi selanjutnya diberi fitoestrogen menunjukkan aktivitas proliferasi pada sel-sel endometrium (Haibin *et al.* 2005).

Mekanisme kompetisi fitoestrogen dengan estrogen endogen yaitu dengan menghambat aktivitas enzim DNA isomerase II menjadikan ekspresi protein pada sel terhambat (Prawiroharsono, 2001). Fitoestrogen merupakan penghambat bagi aromatase yang berfungsi pada pembentukan estradiol (Almstrup *et al.* 2002 dalam Moggs *et al.* 2004). Selain itu, fitoestrogen menghambat  $17\beta$  hidroksisteroid dehidrogenase I sehingga mempengaruhi ketersediaan estradiol (Whitten dan Pattisaul, 2001). Akan tetapi, pengaruh fitoestrogen bersifat bifasik terhadap sintesis DNA, yaitu konsentrasi 0,1 – 10  $\mu\text{M}$  menginduksi sintesis DNA sedangkan konsentrasi 20 – 90  $\mu\text{M}$  memiliki sifat menghambat sintesis DNA (Wang dan Kurzer, 2003).

Beberapa organ yang dapat dipengaruhi oleh fitoestrogen yaitu ovarium, uterus, prostat, dan testis (Tsourounis, 2004). Afinitas yang dimiliki terhadap reseptor tidak setinggi estradiol namun fitoestrogen dapat menimbulkan pengaruh estrogenik (Sheehan, 2005). Aktivitas dan implikasi klinis fitoestrogen sangat tergantung pada jumlah reseptor estrogen, letak reseptor estrogen, dan konsentrasi estrogen endogen yang mampu bersaing (Kim *et al.*, 1998).

Dalam tafsir Amr ibnu Maimun menjelaskan bahwa tidak ada suatu makanan yang lebih baik bagi wanita selain kurma muda dan kurma masak. Firman Allah dalam surah Maryam ayat 25:


 وَهَزَيَّا إِلَيْكَ بِمِجْذِجِ النَّخْلَةِ تَسْقُطُ عَلَيْكَ رَطْبًا جَنِيًّا

Artinya : “Dan goyanglah pangkal pohon kurma itu ke arahmu, niscaya pohon itu akan menggugurkan buah kurma yang masak kepadamu. (Q.S Maryam: 25)”.

Buah kuma merupakan tanaman tertua yang dibudidayakan, dapat digunakan sebagai peneduh untuk seseorang atau tanaman kecil disekitarnya. Pemanfaatan dari buah kurma banyak digunakan dalam alternatif pengobatan secara alami seperti dalam bidang kesehatan diantaranya dibidang reproduksi khususnya reproduksi wanita. Kurma juga dimanfaatkan untuk memperkuat keseburan wanita pada mesir kuno (Bahmanpour *et al.*, 2006).

Pengetahuan tentang reproduksi secara keseluruhan merupakan sarana untuk perbaikan fertilitas. Berdasarkan latar belakang diatas, perlu adanya penelitian tentang efek fitoestrogen ekstrak buah kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab terhadap tebal endometrium pada mencit (*Mus musculus*) betina. Meninjau dari hasil penelitian terdahulu dan berkembangnya pengetahuan, digunakan tingkatan dosis untuk melihat kondisi reproduksi mencit betina. Sehingga diharapkan penelitian ini dapat mengetahui aktivitas fitoestrogen dari ekstrak buah kurma ruthab terhadap tebal endometrium mencit betina berdasarkan pengamatan histologi uterus.

## B. Rumusan Masalah

Berdasarkan dari latar belakang diatas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah bagaimana efek fitoestrogen ekstrak buah kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab terhadap tebal endometrium mencit (*Mus musculus*) betina?

### **C. Tujuan Penelitian**

Untuk menganalisis efek fitoestrogen ekstrak buah kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab terhadap tebal endometrium mencit (*Mus musculus*) betina.

### **D. Batasan Penelitian**

Batasan penelitian ini adalah hewan coba yang digunakan sebanyak 30 ekor mencit (*Mus musculus*) betina dengan berat 25-30 gram yang berumur 6-7 minggu. Ekstrak yang diberikan adalah ekstrak kurma (*Phoenix daftylifera*) ruthab dengan dosis 1 kurma (2 gram), 3 kurma (6 gram), 7 kurma (14 gram) diberikan secara oral sebanyak 4 perlakuan dan 5 ulangan. Parameter yang digunakan pada penelitian ini adalah tebal endometrium.

### **E. Manfaat Penelitian**

1. Bagi peneliti
  - a. Menambah pengetahuan tentang efek fitoestrogen ekstrak buah kurma ruthab terhadap tebal endometrium mencit betina.
  - b. Mendapatkan pengalaman melakukan ekstraksi, pembedahan mencit, pembuatan preparat histologi dan pengamatan preparat.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Deskripsi Kurma

##### 1. Morfologi kurma

Kurma (*Phoenix dactylifera*) termasuk tumbuhan palem yang dapat dimakan buahnya karena rasanya manis. Tinggi pohon kurma sekitar 15 - 25 meter, batang pohon terbuat dari serat selulosa yang kuat dan dimanfaatkan sebagai kayu lapis. daun menyirip memiliki panjang 3 - 5 meter (Al-Shahib dan Marshall, 2003; Satuhu, 2010). Buah kurma memiliki ciri-ciri bervariasi, antara lain memiliki panjang 3-7 sentimeter, berat 2 - 60 gram, teksturnya lunak hingga kering, berbiji, dan memiliki warna kuning kecoklatan, kuning kemerahan hingga coklat gelap (Putrie, 2014).

##### 2. Taksonomi Kurma

*Phoenix dactylifera* atau kurma berasal dari bahasa Yunani, “*Phoenix*” yang berarti buah ungu atau merah, dan “*dactylifera*” dalam bahasa Yunani disebut dengan “*daktulos*” yang artinya jari, sama dengan yang terlihat pada bentuk buah kurma (Putrie, 2014). Dalam bahasa Arab kurma (*Phoenix dactylifera*) disebut *tamar* yang berarti buah manis dengan kandungan gula lebih dari 50% dan merupakan kebutuhan utama dari salah satu sektor ekonomi penting di Timur Tengah (Franz Augstburger *et al.*, 2002). Kurma merupakan salah satu makanan tertua di dunia selama lebih dari



### a. Stadium hababouk

Hababouk merupakan tahapan awal mula pertumbuhan kurma sampai usia fisiologis 5 minggu. Buah masih tertutup kelopak daun (imature) dan buah akan terus berkembang hingga warna hijau. Berat rata-rata mencapai 1 gram, kecepatan pertumbuhan lambat.



Gambar 2.1. Stadium Hababouk (Alebidi, 2008)

### b. Stadium kimri

Bentuk buah bulat hingga berubah memanjang (bentuk oval) akan tetapi buah masih didominasi warna hijau tua sedikit kekuningan. Buah kurma pada tahap ini umumnya tidak enak dimakan. Pada tahap kimri rata-rata panjang buah adalah 27,5 mm, diameter 17,8 mm, berat 5,8 gr, serta mengandung 5,6% protein, 0,5% lemak, dan 3,7% abu (Al-Shahib dan Marshall, 2003).



Gambar 2.2. Stadium kimri (Alebidi, 2008)

### **c. Stadium khalal**

Bergantung dari varietasnya, buah kurma pada tahapan khalal akan mengalami perubahan warna dari hijau kekuningan menjadi kuning, orange, hingga merah tua dan daging buah masih cukup keras. Rata-rata panjang buah bertambah menjadi 32,5 mm dengan diameter juga bertambah menjadi 21 mm. Persentase protein, lemak, dan abu berkurang menjadi 2,7%, 0,3% dan 2,8%, sementara berat rata-rata bertambah menjadi 8,7% (Al-Shahib dan Marshall, 2003).



Gambar 2.3. Stadium Khalal (Alebidi, 2008)

### **d. Stadium ruthab**

Kurma ruthab memiliki karakteristik daging buah lembut dan warna buah cenderung memekat. Usia fisiologis buah berkisar 19-22 minggu, tergantung dari tiap-tiap kultivarnya. Kandungan air buah kurma ruthab sekitar mencapai 43%. Komponen nutritif lainnya menurun kira-kira 0,3% lemak, 2,6% kadar abu, dan 2.6% protein (Al-Shahib dan Marshall, 2003).



Gambar 2.4. Stadium Ruthab (Alebidi, 2008)

#### e. Stadium tamr

Pada tahapan ini buah kurma mengering dengan konstan karena terdapat penurunan kadar air yang cukup signifikan, warnanya berubah menjadi coklat atau hampir hitam. Namun, terdapat beberapa variasi buah kurma yang tidak mengalami tahapan ini. Persentase protein 2,3%, lemak 0,2% dan kadar abu 1,7% (Al-Shahib dan Marshall, 2003; Rahmadi, 2010).



Gambar 2.5. Stadium Tamr (Alebidi, 2008)

#### 4. Kandungan Kurma

Kandungan nutrisi kurma tergantung pada varietas dan kandungan air. Umumnya memiliki kandungan yaitu gula (glukosa, sukrosa, dan fruktosa), protein, lemak, serat, vitamin A, B1, B2, B3, potasium, kalsium, tembaga,

sulfur, besi, fosfor, klorin, dan beberapa enzim (Khanzah, 2011). Konsumsi kurma selama bulan puasa secara ilmiah terbukti sebagai makanan sehat. Tingginya kalori dan mudahnya metabolisme kandungan gula pada kurma dapat mengatasi kekurangan kalori akibat kurangnya energi saat beraktivitas pada bulan puasa. Namun, kurma masih memiliki banyak nutrisi lain diantaranya :

a. Karbohidrat

Komponen buah kurma yang sebagian besar merupakan gula pereduksi glukosa dan fruktosa. Kandungan gula ini mencapai sekitar 20-70% (bobot kering) dan gula non-pereduksi sukrosa yang terdapat sekitar 0-40%. Komposisi gula yang terdapat pada kurma menyesuaikan dari jenis dan tingkat kematangannya (Ahmed *et al.*, 1995; Al-Hooti *et al.*, 1997).

b. Protein

Kadar protein pada kurma berkisar antara 1,4-1,7g/100g berat basah daging buah kurma (Al-Farsi & Lee, 2008). Kurma juga mengandung asam amino esensial seperti treonin, lisin, dan isoleusin. Kandungan protein dan asam amino buah kurma akan mencapai puncak pada tahapan kimri dan terus menurun seiring dengan meningkatnya derajat kematangan (Al-Hooti *et al.*, 1997; Al-Shahib & Marshall, 2003). Selain itu, varietas dan asal tumbuh juga memiliki peranan penting dalam perbedaan kandungan proksimat dari buah kurma (Al-Farsi & Lee, 2008).

c. Asam lemak

Kadar lemak pada buah kurma sangat rendah yaitu sekitar (0.3-0.5%). Diketahui bahwa terdapat asam oleat sebanyak 48.5 g/100g biji kurma (Al-Shahib & Marshall, 2003; Al-Shahib, 2003). Kandungan asam lemak pada kurma terdiri seperti *capric*, *myristic*, *lauric*, *behenic*, *arachidic*, *margaric*, dan asam *tricosanoic* (Assirey, 2014).

d. Vitamin

Kurma mempunyai kandungan vitamin dan mineral yang cukup banyak, meliputi vitamin C, vitamin B1, vitamin B2, vitamin A, niasin, kalsium, besi, magnesium, zinc dan lain-lain (Al-Shahib, 2003).

## 5. Manfaat Buah Kurma

a. Sebagai anti-inflamasi

Kurma mengandung asam salisilat yang bersifat mencegah pembekuan darah, antiinflamasi, dan menghilangkan rasa ngilu ataupun rasa nyeri. Penelitian terbaru menunjukkan komponen fenol dan flavonoid yang terdapat pada tumbuhan memiliki pengaruh sebagai agen anti-inflamasi yang baik (Rahmani *et al.*, 2014).

b. Mengatasi anemia

Kandungan kalium sangat bermanfaat bagi kesehatan jantung dan pembuluh darah karena berfungsi untuk menstabilkan denyut jantung, mengaktifkan kontraksi otot jantung, sekaligus mengatur

tekanan darah. Oleh karena itu, kalium bermanfaat dalam mencegah penyakit stroke.

c. Sembelit

Kurma mengandung banyak serat yang baik bagi usus, sehingga mencegah sembelit dan melancarkan buang air besar. Serat berguna untuk menurunkan kadar kolestrol dalam darah, sehingga kolestrol dalam darah tidak meningkat karena penyerapan lemak dan kolestrol terhambat didalam usus besar (Khazanah, 2011).

d. Kurma juga mengandung vitamin yang dapat membantu menguatkan saraf, melancarkan peredaran darah, membersihkan usus, serta memelihara dari radang dan infeksi (Satuhu, 2010).

e. Agen fitoestrogen

Fitoestrogen merupakan senyawa dengan struktur kimia mirip dan dapat menggantikan peran estrogen. Peran utama fitoestrogen berasal dari aktivitas estrogeniknya melalui ikatan dengan kedua reseptor estrogen pada manusia ( $ER\alpha$  dan  $ER\beta$ ) (Richter *et al.*, 2010).

f. Sebagai antioksidan

Kurma merupakan sumber antioksidan yang baik. Antioksidan dalam buah kurma yaitu karotenoid, kadarnya mencapai 973 mg/100 g kurma kering, fenolik mencapai 239,5 mg/ 100 g kurma kering, flavonoid dan tanin (Utami & Risti, 2017).

g. Sebagai anti-karsinogenik

Berdasarkan penelitian sebelumnya menunjukkan beta D-glucan yang terdapat pada buah kurma mempunyai aktivitas anti-karsinogenik.

h. Sebagai pencegah diabetes

Kandungan pada tumbuhan diketahui mempunyai peranan penting untuk mengobati diabetes. Adanya zat aktif yang terkandung pada daging buah kurma seperti steroid, fenol, saponin dan flavonoid mempunyai manfaat untuk anti-diabetes. Penelitian terdahulu membuktikan bahwa adanya flavonoid pada kurma mampu meningkatkan perbedaan hasil biokimia pada tikus diabetes (Rahmani *et al.*, 2014).

i. Infertilitas

Ekstrak serbu sari kurma terdapat mikroelemen seperti *sterol*, *estron*, dan zat lainnya yang memiliki pengaruh terhadap fertilitas pria. Pada penelitian terdahulu ekstrak serbuk sari kurma dengan konsentrasi 120 mg/kg memiliki efek pada parameter sperma dan dapat peningkatan kadar estradiol serta testosteron dalam plasma (Satuhu, 2010).

j. Hepatoprotective

Kurma dapat mengurangi stress oksidatif yang tinggi pada *hepatic malonaldehyde*. Pada penelitian sebelum dan sesudah

pemberian sari bii kurma dan daging buah menunjukkan penurunan  $\text{CCl}_4$  yang diketahui dapat merusak hepar sehingga membuat kadar AST, ALT, ALP, LDH, Gamma Glutamil transferase, konsentrasi bilirubin menjadi normal (Satuhu, 2010).

k. **Memperlancar Persalinan**

Kandungan dalam buah kurma yang mirip dengan oksitosin yang merupakan hormon untuk mendorong kontraksi rahim. Kurma juga dapat membantu dalam dilatasi serviks pada wanita yang akan melahirkan (Satuhu, 2010).

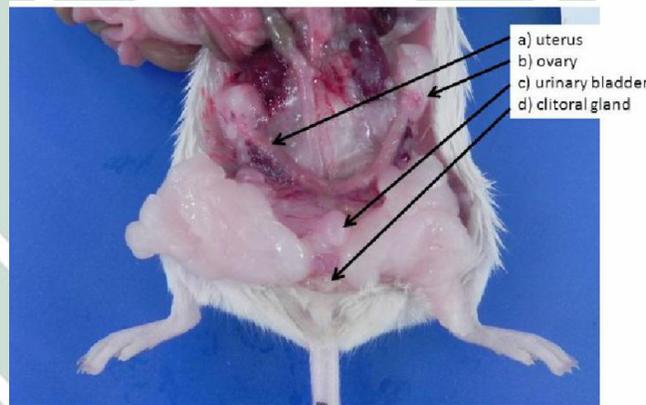
## **B. Organ Reproduksi Betina**

### **1. Morfologi dan Anatomi uterus**

Rahim atau uterus merupakan salah satu bagian dari saluran reproduksi yang mempunyai dinding yang tebal. Rahim mempunyai bentuk mirip buah alpukat yang kecil dengan panjang 7 cm, lebar 5 cm, dan tebal 2-3 cm. Pada umumnya uterus pada setiap spesies terdiri atas dua bagian utama, yaitu :bagian atas yang melebar disebut badan rahim (*corpus uteri*), bagian bawah yang berbentuk silinder disebut leher rahim (*cervix uteri*) (Lesson *et al.*, 1996; Ahwani, 2012).

Uterus adalah organ reproduksi betina yang memiliki fungsi untuk menerima dan tempat berkembangnya ovum yang sudah dibuahi. Pada mamalia terdapat empat jenis uterus yang tidak sama pada setiap spesies,

yaitu uterus dupleks, uterus bikornis, uterus bipartitis, dan uterus simpleks. Uterus tikus dan mencit berbentuk tabung ganda. Disebut tipe dupleks karena mempunyai dua buah serviks, memiliki dua kornua yang terpisah, serta tidak memiliki korpus uteri (Amita, 2015). Uterus mencit berada pada sisi sorsan dan berbentuk Y. Pada ujung distal dari horns uterus terdapat ovarium yang dihubungkan dengan oviduk pendek (Cavalcanto, 2007).



Gambar 2.6. Reproduksi Mencit Betina (Cavalcanto, 2007)

## 2. Histologi uterus

Struktur dinding uterus terdiri atas 3 lapisan, yaitu

### a. Perimetrium

Lapisan luar dinding rahim yaitu serosa atau perimetrium yang terdiri dari jaringan ikat longgar yang dilapisi oleh sel mesotel ditopang oleh jaringan ikat tipis. Pada perimetrium terdapat sel-sel otot polos.

b. Miometrium

Miometrium adalah lapisan uterus paling tebal dibanding dengan dua lapisan lainnya. Miometrium terdiri dari lapis otot yang melingkar dan lapis luar memanjang yang terdiri dari sel-sel otot polos yang dapat meningkatkan jumlah dan ukurannya selama kebuntingan (Feradis, 2010). Lapisan vaskuler yang terdapat didalamnya adalah lapisan sangat penting karena pada lapisan vaskuler ini terletak semua vaskulerisasi dan persyarafan uterus (Amita, 2015).

c. Endometrium

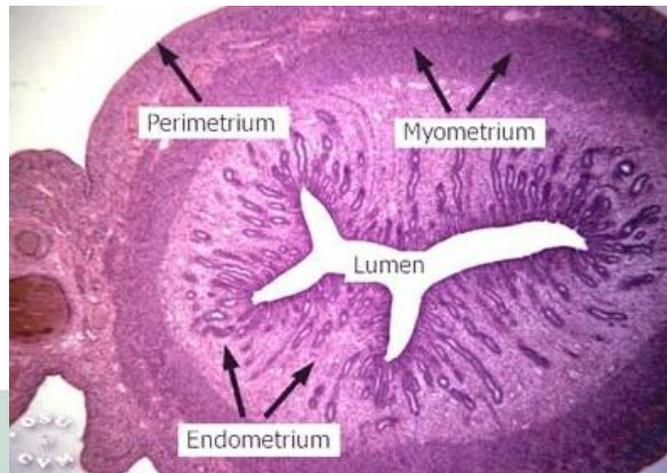
Endometrium terdiri dari epitel dan lamina propria yang terdapat kelenjar tubular simpleks yang kadang bercabang pada bagian dalamnya (dekat miometrium). Endometrium dilapisi dengan sel epitel silindris dan campuran sel sekresi dan bersilia. Jaringan ikat dari lamina propria mengandung banyak fibroblas dan substansi dasar amorf. Serat jaringan ikat yang ada kebanyakan dari jenis retikulin (Junqueira, 2007).

Lapisan endometrium uterus terdiri atas tiga daerah fungsional, yaitu stratum basalis, stratum spongiosum dan stratum kompakum. Stratum spongiosum dan stratum kompakum biasa disebut juga stratum fungsional. Stratum fungsional ini dilapisi oleh epitel berbentuk kubus selapis (tunggal). Selama siklus estrus, stratum

fungsional mengalami degenerasi sebagian atau seluruhnya sedangkan stratum basalis relatif tetap dan bertindak sebagai pembentuk stratum fungsional yang mengalami degenerasi. Endometrium uterus juga dilengkapi oleh kelenjar dan pembuluh darah (Sitasiwi, 2009).

Adanya perubahan siklus berulang yang terjadi selama masa reproduksi menjadikan ketebalan endometrium sangat bervariasi, yaitu dari 0,5 mm hingga 5 mm. Selama terjadinya siklus endometrium, ukleus yang berbentuk oval terletak dibagian bawah sel, namun tidak terlalu dekat ke membran basal (Prawirohardjo, 2008).

Pengaruh estrogen terhadap uterus salah satunya yaitu adanya proliferasi endometrium serta pertumbuhan kelenjar endometrial yang biasa digunakan sebagai pembantu nutrisi ovum yang mengalami implantasi. Pada tahapan sekretoris, endometrium mengalami penambahan tebal diakibatkan adanya peningkatan aktivitas sekretoris kelenjar serta cairan edema pada stroma. Berkumpulnya hasil sekresi dalam jumlah yang besar menyebabkan sel-sel kelenjar mengalami hipertrofi. Lumen menjadi lebar dan sering terisi oleh sekret, sedangkan kelenjar menjadi berkelok-kelok (Agustin, 2007).



Gambar 2.7. Histologi Uterus (Cavalcanto, 2007)

### 3. Hormon Reproduksi

Fungsi reproduksi wanita dibagi menjadi dua tahapan utama, yaitu persiapan untuk menerima kehamilan dan konsepsi. Terdapat dua hasil yang penting dari siklus seksual wanita. Pertama ovum yang dikeluarkan dari ovarium hanya satu ovum matang yang normal setiap bulannya. Kedua persiapan endometrium untuk implantasi ovum yang telah dibuahi (Guyton, 1990). Sistem reproduksi yang berkualitas harus didukung oleh kerja hormon yang optimal.

Hormon yang berperan mendukung sistem reproduksi betina antara lain Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH), Luteinizing Hormon (LH), Folicle Stimulating Hormon (FSH), estrogen dan progesteron (Brook dan Marshal 1996). Gonadotropin-Releasing Hormon (GnRH) diproduksi oleh hipotalamus dan ditujukan ke hipofisis anterior (adenohipofisis) (Mayes *et*

al. 1985). Oleh pengaruh GnRH ini, adenohipofisis mengeluarkan LH dan FSH.

Hormon steroid yang disekresikan oleh kelenjar endokrin asalnya, 95-98% hormon ini akan di dalam aliran darah dan berikatan dengan protein transpor spesifik. Ketika di dalam sel, steroid hanya memiliki respon pada sel yang memiliki reseptor intraseluler spesifik. Oleh karena itu, reseptor estrogen ditemukan di otak dan sel target yang spesifik untuk fungsi reproduksi wanita, seperti uterus dan payudara (Heffner & Schust, 2006).

**a. FSH (*Folicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*)**

FSH atau *Folicle Stimulating Hormone* mempunyai beberapa fungsi, yaitu menginisiasi perkembangan folikel ovarium, menstimulasi sekresi hormon estrogen dari sel folikel (Scanlon dan Sanders, 1991). FSH memicu pematangan folikel pada ovarium dan sekresi estrogen. Sintesis dari FSH dan LH diatur oleh gonadotropin. Pada fase folikel ini bertepatan dengan fase proliferasi pada uterus, peningkatan kadar estrogen merangsang endometrium untuk menebal dan mempunyai banyak pembuluh darah. Kadar estrogen yang meningkat menyebabkan penghambatan sekresi FSH dan secara langsung merangsang peningkatan sekresi LH selama fase folikel (Sherwood, 2001).

## **b. Estrogen**

Estrogen merupakan salah satu hormon reproduksi pada hewan betina. Hormon ini disekresi oleh sel granulosa dalam folikel ovarium. Estrogen yang dibentuk oleh sel granulosa dalam folikel ovarium melalui serangkaian konversi melalui reaksi enzimatik (Ganong, 2003). Estrogen bekerja dengan merangsang pertumbuhan miometrium dan endometrium. Peningkatan dalam sintesis reseptor progesteron di dalam endometrium dipengaruhi oleh hormon estrogen sehingga progesteron mampu merangsang endometrium tetapi setelah endometrium tersebut dirangsang oleh estrogen. Estrogen akan memberikan umpan balik negatif ke hipotalamus bila kadarnya dalam tubuh berlebih yang berakibat pada penghentian sintesis FSH (Yatim, 1994).

Estrogen yang dihasilkan oleh FSH mempunyai fungsi utama, yaitu: menyebabkan proliferasi dan pertumbuhan sel jaringan organ seks dan jaringan lain yang berhubungan dengan reproduksi, selain itu estrogen juga mengubah epitel vagina dari kuboid menjadi berlapis yang jauh lebih resisten terhadap trauma dan infeksi daripada epitel prapubertas (Guyton, 1990).

Kemampuan estrogen untuk merangsang perkembangan jaringan yang terlibat dalam reproduksi, dilakukan dengan cara

meningkatkan kecepatan sintesis protein, rRNA, mRNA, tRNA, dan DNA. Sehingga, jaringan tersebut akan mengalami perkembangan dengan sangat cepat (Murray *et al.*, 2003). Estrogen mendorong pertumbuhan lapisan mukosa beserta kelenjar seluruh kelamin (Yatim, 1976). Epitel kuboid pada vagina diubah oleh estrogen menjadi bertingkat yang dianggap lebih tahan terhadap trauma dan infeksi. Estrogen juga mempengaruhi proliferasi stroma endometrium dan sangat meningkatkan perkembangan kelenjar endometrium yang nantinya akan memberi nutrisi pada ovum yang berimplantasi (Guyton, 1990). Kenaikan kadar estrogen menyebabkan lapisan epitel tuba aktif bermitosis, sel silia dan sel sekretori semakin tinggi.

### **c. Progesteron**

Progesteron disintesis oleh korpus luteum setelah proses ovulasi. Pasca ovulasi, folikel de Graaf mengalami transformasi menjadi korpus luteum. Korpus luteum ini akan mensintesis hormon progesteron yang berperan merangsang kelenjar-kelenjar dalam endometrium. Progesteron bekerja pada endometrium yang digunakan untuk persiapan menerima ovum yang sudah dibuahi. Progesteron juga mempersiapkan untuk menampung embrio yang berkembang dengan cara merangsang kelenjar-kelenjar endometrium untuk mengeluarkan dan menyimpan glikogen dalam jumlah besar





Kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab memiliki kandungan fitoestrogen. Fitoestrogen merupakan senyawa dengan struktur kimia mirip dan dapat menggantikan peran estrogen. Fitoestrogen terdapat pada tanaman, misalnya kacang-kacangan, kedelai, biji-bijian dan lain-lain. Peran utama fitoestrogen berasal dari aktivitas estrogeniknya melalui ikatan dengan kedua reseptor estrogen pada manusia ( $ER\alpha$  dan  $ER\beta$ ). Fitoestrogen dibagi menjadi beberapa kelompok berdasarkan sifat kimianya dan dua golongan utama yang sering diteliti pengaruhnya pada manusia adalah isoflavon serta lignan (Richter *et al.*, 2010). Fitoestrogen telah terbukti meningkatkan berat uterus (Fernandez *et al.*, 2015) melalui peningkatan ketebalan endometrium dan memperbaiki profil lipid. Jika tubuh mendapat suplai fitoestrogen maka akan terjadi peningkatan reseptor estrogen, walaupun afinitasnya rendah, fitoestrogen dapat berikatan dengan reseptor tersebut. Banyaknya reseptor estrogen akan mempengaruhi produksi hormon estrogen sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan, perkembangan, pematangan dan fungsi saluran reproduksi.

#### **A. Hipotesis**

Hipotesis dalam penelitian ini adalah ekstrak buah kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab meningkatkan efek fitoestrogen terhadap tebal endometrium mencit (*Mus musculus*) betina.

## BAB IV

### METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Alat dan Bahan Penelitian

##### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian terdiri dari alat persiapan penelitian, alat ekstraksi buah kurma dan alat pembuatan preparat histologi. Alat persiapan penelitian meliputi kandang mencit ukuran 34 cm x 25 cm x 12 cm dari plastik dan penutup dari ram kawat besi, timbangan analitik, jarum sonde lambung ujung tumpul 20 *gauge* 5cm, botol minum mencit.

Alat ekstraksi buah kurma terdiri dari *beaker glass*, gelas ukur, corong, pipet tetes, spatula, *rotary evaporator*, baki *stainless steel*, baki plastik, pisau, talenan. Alat Pembuatan preparat terdiri dari gelas objek, gelas penutup, *rotary microtome*, *waterbath*, botol reagen, mikroskop optik lab, *staining jar*, flakon, *holder*, skalpel.

##### 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian terdiri dari bahan persiapan, bahan ekstraksi buah kurma ruthab, bahan induksi dan bahan pembuatan preparat histologi. Bahan persiapan yang digunakan adalah hewan coba mencit (*Mus musculus*) betina dengan berat 25-30 gram yang berumur 6-7 minggu di dapat dari PUSVETMA (Pusat Veteriner Farma) Surabaya, pellet dan aquades steril.

Bahan ekstraksi buah kurma terdiri dari buah kurma ruthab, metanol, kertas saring, *tissue*. Bahan pembuatan preparat histologi yaitu *chloroform*, larutan fiksatif formalin, NaCl 0,9 %, parafin, gliserin dan albumin, alkohol bertingkat, alkohol absolut, pewarna Hematoxylin dan Eosin (HE), xylol, entelan.

### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Terintegrasi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai Desember 2017.

### **C. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang bertujuan untuk menguji pengaruh perlakuan pada kelompok uji yang dibandingkan dengan kelompok kontrol. Mencit tersebut terbagi atas 4 kelompok dan 5 kali ulangan yaitu :

K (-) : Diinjeksi dengan Aquades 0,2 ml

P1 : Diinjeksi dengan ekstrak kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab dengan dosis 1 kurma sebanyak 0,2 ml.

P2 : Diinjeksi dengan ekstrak kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab dengan dosis 3 kurma sebanyak 0,2 ml.

P3 : Diinjeksi dengan ekstrak kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab dengan dosis 7 kurma sebanyak 0,2 ml.

## D. Prosedur Penelitian

### 1. Identifikasi Hewan Coba

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) betina sebanyak 20 ekor mencit. Identifikasi hewan coba dilakukan dengan melihat dan mencocokkan kunci identifikasi yang dijelaskan oleh suyanto pada buku Rodent Di Jawa (Suyanto, 2006).

### 2. Penentuan Jumlah Hewan Coba

Subyek pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) betina yang berumur 6-7 minggu dengan berat rata-rata 25-30 gram. Mencit (*Mus musculus*) betina dibagi kedalam 6 kelompok percobaan. Jumlah hewan coba tiap kelompok dihitung dengan rumus Federer :

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

$$(4-1)(n-1) > 15$$

$$3(n-1) > 15$$

$$3n - 3 > 15$$

$$3n > 18$$

$$n > 6$$

Keterangan :

k : jumlah kelompok

n : jumlah sampel tiap kelompok

Dari hasil perhitungan didapat jumlah hewan coba untuk masing-masing kelompok adalah 5 ekor mencit (*Mus musculus*).

### 3. Identifikasi Kurma

Kurma dalam penelitian ini diidentifikasi menurut karakteristik morfologinya yang digunakan dengan merk “multazam” yang perkotaknya berisi 250 gram. Identifikasi kurma ruthab dilakukan sesuai dengan artikel yang berjudul *Field identification of the 50 most common plant families in temperate region* (Lena, 2009).

### 4. Pembuatan Ekstrak Kurma Ruthab (*Phoenix dactylifera*)

Pembuatan ekstrak buah kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab dengan langkah sebagai berikut yaitu:

- a. Disiapkan buah kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab berat basah 250 gram.
- b. Dipisahkan daging buah dengan biji.
- c. Dipotong daging buah kurma kecil-kecil.
- d. Dilakukan pengeringan menggunakan oven selama 3 hari pada suhu 60 °C. Sehingga dihasilkan berat kering sebesar 150 gram.
- e. Diblender daging buah kurma hingga menjadi serbuk.

- f. Dimaserasi dengan pelarut metanol sebanyak 300 ml dan diulang 2 kali selama 6 hari
- g. Filtrat hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring whatsmen, dilakukan setiap 3 hari sekali hingga tidak terdapat residu.
- h. Dievaporasi dengan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu 50 °C selama kurang lebih 30 menit, sampai diperoleh ekstrak kental, kemudian ekstrak dimasukkan botol vial.

#### 5. Pembuatan dosis Ekstrak Kurma Ruthab (*Phoenix dactylifera*)

Pada penelitian ini pembuatan dosis ekstrak kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab menggunakan rumus sebagai berikut :

- a. Dosis 1 butir kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab

$$1) \frac{200 \text{ mg} \times 0,0026}{0,02 \text{ mg}} = 260 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \text{ BB}$$

- 2) Volume pelarut dalam 30 ml aquades

$$\frac{260 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \text{ BB}}{30 \text{ ml}} = 8,7 \text{ mg ekstrak dalam 30 ml aquades}$$

- b. Dosis 3 butir kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab

$$1) \frac{6000 \times 0,0026}{0,02 \text{ mg}} = 780 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \text{ BB}$$

- 2) Volume pelarut dalam 30 ml aquades

$$\frac{780 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \text{ BB}}{30 \text{ ml}} = 26 \text{ mg ekstrak dalam 30 ml aquades}$$

- c. Dosis 7 butir kurma (*Phoenix dactylifera*) ruthab

$$1) \frac{14000 \times 0,0026}{0,02 \text{ mg}} = 1820 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \text{ BB}$$

2) Volume pelarut dalam 30 ml aquades

$$\frac{1820 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \text{ BB}}{30 \text{ ml}} = 60,7 \text{ mg ekstrak dalam 30 ml aquades}$$

## 6. Pemberian Perlakuan

Hewan mencit (*Mus musculus*) dibeli di Pusvetma (Pusat Veteriner Farma), Surabaya. 20 ekor mencit diaklimatisasi di Laboratorium selama 7 hari untuk mengkondisikan kondisi mencit secara seragam. Mencit yang digunakan merupakan mencit yang masih virgin dengan umur  $\pm 16$  minggu, karena pada umur tersebut merupakan umur yang produktif dari mencit betina.

Dibagi mencit menjadi 4 kelompok, masing-masing kandang berisi 6 ekor mencit betina. Mencit dalam kandang, masing-masing diberi penanda strip 1-6 dengan spidol pada ekornya. Diet diberikan setiap hari dengan memberi pakan voer 925 dan diberi minum dengan aquades.

Mencit dipelihara didalam kandang yang berukuran 58 x 38 x 16 cm. Bagian atas kandang ditutup dengan kawat. Alas kandang diberi sekam. Sekam diganti setiap 2 hari sekali agar kebersihan dalam kandang tetap terjaga. Selain itu, dilakukan penimbangan berat badan untuk melihat pertumbuhan dan perkembangan mencit.

Ekstrak kurma ruthab diberikan secara oral menggunakan jarum sonde. Pemberian ekstrak dilakukan setiap hari dengan waktu 15 hari

sesuai dosis yang telah dibuat. Sesudah 15 hari perlakuan, pembedahan dilaksanakan untuk mengambil uterus. Setelah dilakukan pembedahan, hewan coba kemudian dikemas lalu dikubur. Hal ini telah sesuai kode etik pada umumnya.

## **7. Pembuatan sediaan histologi uterus**

Pembuatan sediaan histologi uterus dengan metode parafin yaitu pewarnaan Hematoxylin-eosin (HE). Tahapan pembuatan sediaan histologi uterus yaitu fiksasi, dehidrasi, cleaning, infiltrasi, embedding, pengirisan, dan pewarnaan untuk penentuan perubahan struktur jaringan uterus.

### **a. Tahap Fiksasi**

- 1) Siapkan larutan fiksatif yaitu Buffer formalin 10%
- 2) Siapkan sampel yang akan dibuat menjadi preparat
- 3) Masukkan sampel kedalam larutan fiksatif
- 4) Biarkan sampel terendam dalam larutan fiksatif minimal  
1x24 jam

### **b. Tahap Dehidrasi**

- 1) Disiapkan larutan alkohol bertingkat, mulai dari paling rendah hingga paling tinggi 70% - 80% - 96% - 100%
- 2) Uterus yang telah difiksasi kemudian didehidrasi pada larutan alkohol 70% selama 1 jam

- 3) Dipindahkan dalam larutan alkohol 80%
- 4) Dilanjutkan kedalam larutan alkohol 96% sebanyak 2 kali
- 5) Dipindahkan kedalam larutan alkohol absolut (100%) dalam waktu 1 jam dan pengulangan 2 kali pada alkohol absolut yang berbeda.

**c. Tahap penjernihan (*clearing*)**

Dalam tahapan ini uterus yang sudah didehidrasi kemudian dijernihkan untuk menarik kandungan alkohol dengan xylol I dalam waktu 1,5 jam kemudian dilanjut ke larutan xylol II dalam waktu 1,5 jam.

**d. Tahap *embedding***

Dalam tahapan ini, uterus diletakkan dalam kaset dan diinfiltrasi dengan memberikan parafin yang dilelehkan pada suhu 60°C, lalu parafin tunggu hingga mengeras.

**e. Tahap pemotongan (*sectioning*)**

Pada tahapan ini, uterus yang telah mengeras dikeluarkan dari kaset dan diletakkan pada mikrotom lalu dipotong dengan ketebalan 5 µm menggunakan pisau mikrotom. Hasil potongan diletakkan dalam wadah *waterbath* yang telah dipanaskan pada suhu 40°C. Gelas objek diberi albumin Mayer guna meletakkan sayatan organ ke gelas objek. Sayatan yang ada di gelas objek diambil dengan gelas



- 8) Diambil sediaan dari *running tap water* kemudian direndam dalam waktu 1-5 menit pada pewarna eosin.
- 9) Diambil sediaan dari larutan eosin kemudian dimasukkan dalam alkohol 75% dalam waktu 5 detik, lalu dimasukkan dalam ethanol absolute dalam waktu 5 detik dengan pengulangan 3 kali pada ethanol absolut yang berbeda.
- 10) Diambil sediaan kemudian direndam dalam waktu 5 menit pada xylol III, lalu dipindah dalam xylol IV dalam waktu 5 menit kemudian yang terakhir dipindahkan dalam xylol V dalam waktu 10 menit.
- 11) Diangkat sediaan dari xylol V lalu ditetesi dengan canada balsam.
- 12) Ditutup sediaan dengan *deckglass* secara hati-hati dan teliti kemudian ditunggu sampai kering.

## 8. Pengambilan Data

Mencit dibunuh dan dibedah, kemudian diisolasi uterus mencit dan dibuat sediaan histologi menggunakan pewarnaan *Hematoksin-Eosin* (HE) dengan ketebalan 4-5  $\mu\text{m}$ . Tebal endometrium ditentukan dengan cara mengukur masing-masing tebal lapisan pada sediaan histologis uterus masing-masing satu ekor tikus dibuat pada 1 titik. 1 titik terdiri dari 3 sayatan. Masing-masing sayatan diamati dan diukur

dengan pengulangan masing-masing 8 kali. Selanjutnya dilakukan rata-rata terhadap tebal lapisan endometrium. Pengukuran dan pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya biasa merek *Nikon H600L* yang dilengkapi dengan digital camera DS Fi2 300 megapixel dan *soft ware* pengolah gambar Nikkon Image System.

## **E. Variabel Penelitian**

### **1. Variabel bebas**

Pada penelitian ini variabel bebas adalah dosis bertingkat ekstrak kurma ruthab yaitu dosis 1 kurma (2 gram), 3 kurma (6 gram), 7 kurma (14 gram).

### **2. Variabel terikat**

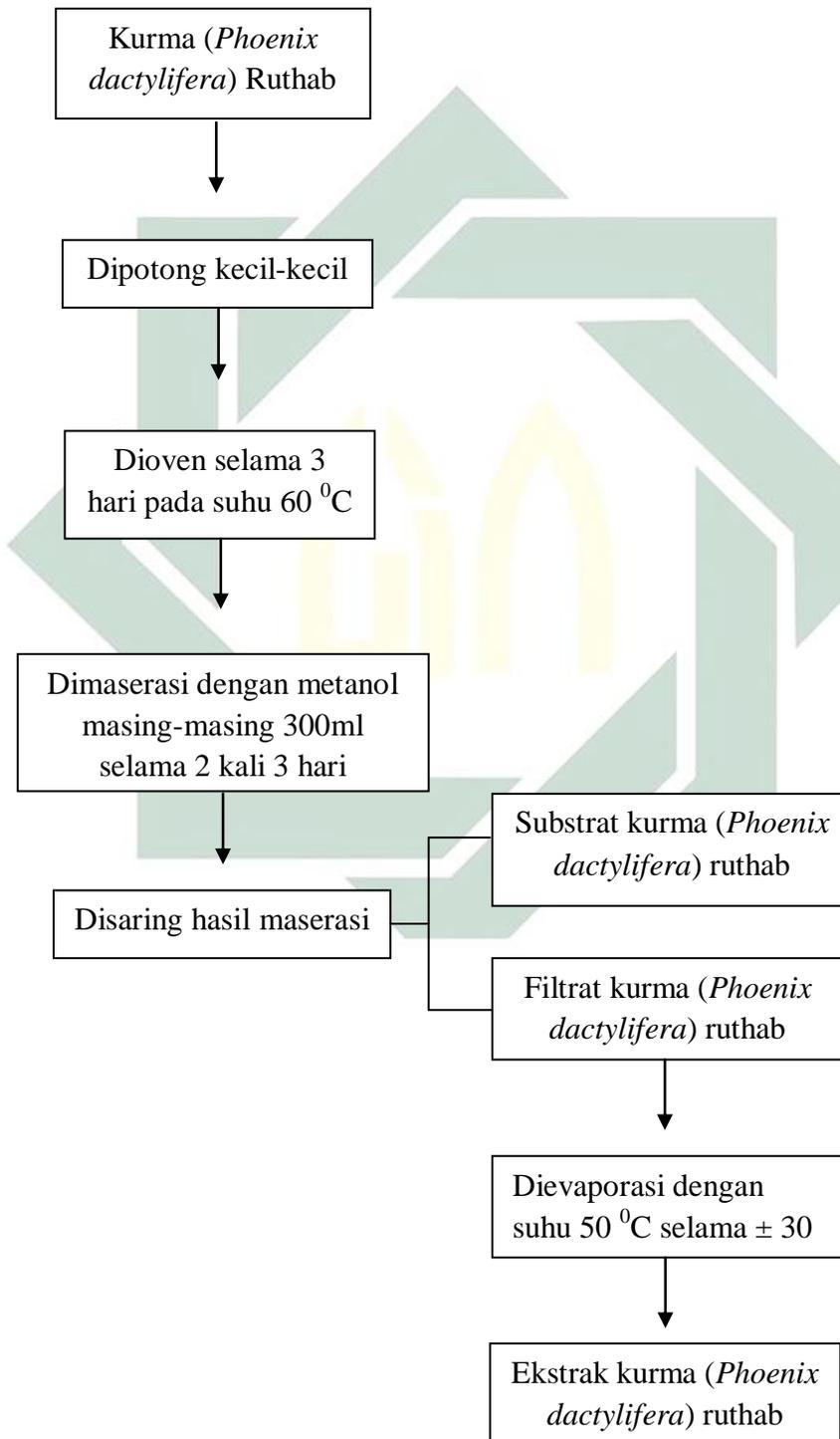
Pada penelitian ini variabel terikat adalah tebal endometrium.

### **3. Variabel terkontrol**

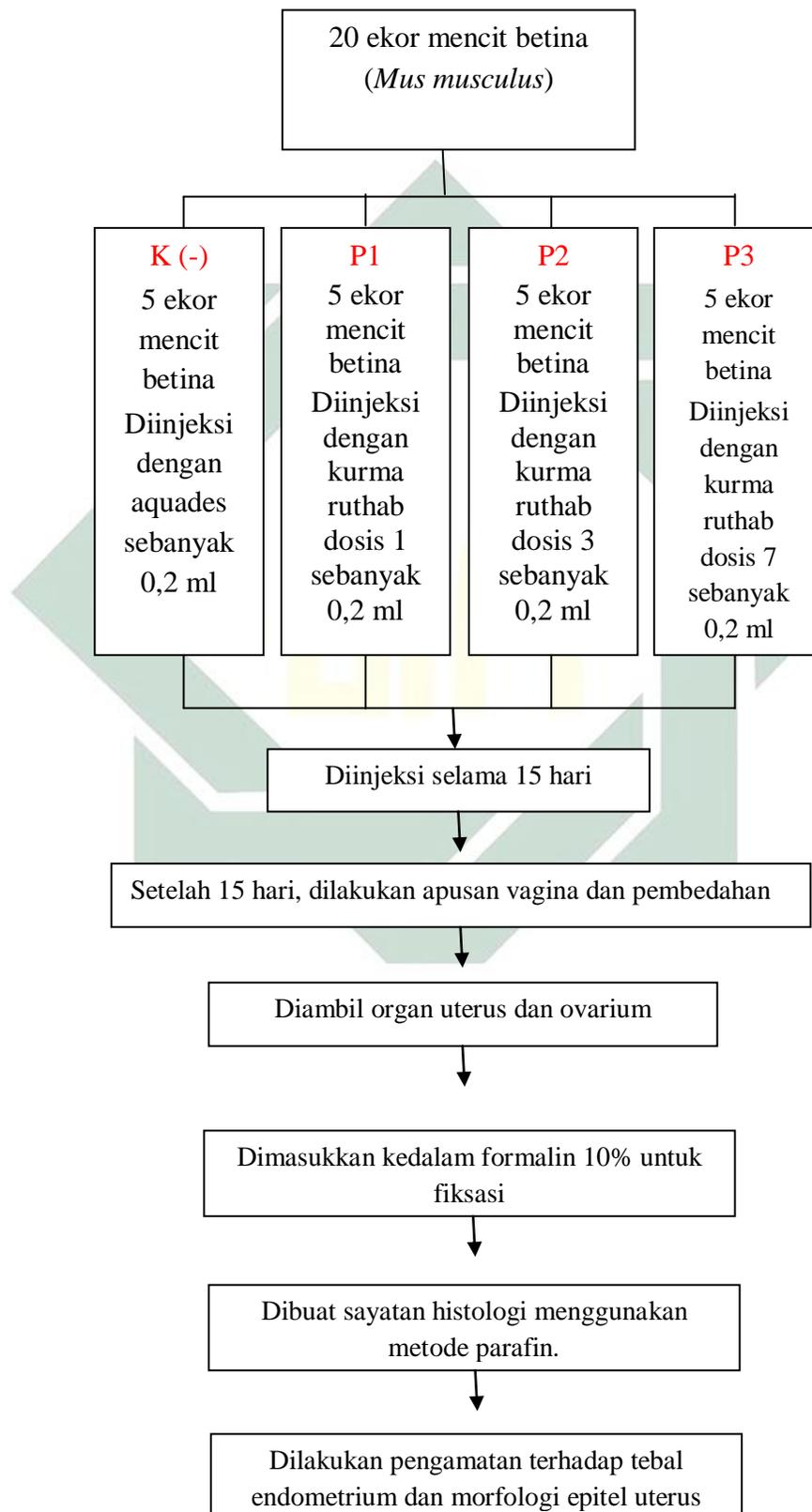
Pada penelitian ini variabel terkontrol adalah spesies mencit (*Mus musculus*) betina, umur 6-7 minggu dengan berat badan 25-30 gram, pakan dan kandang hewan coba.

## F. Kerangka Operasional

### 1. Pembuatan Ekstrak Buah Kurma



## 2. Pemberian Perlakuan





## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Data hasil penelitian ini dianalisis dengan uji *Analysis of Variance* (ANOVA). Uji ini digunakan untuk menguji signifikansi perbedaan rata-rata kelompok. Sebelum uji ANOVA, dilakukan uji normalitas menggunakan uji kolmogorov-smirnov untuk mengetahui distribusi data. Hasil uji normalitas menunjukkan tingkat signifikansi  $(p)=0.754 > \alpha= 0.05$  maka  $H_0$  diterima sehingga data berdistribusi normal.

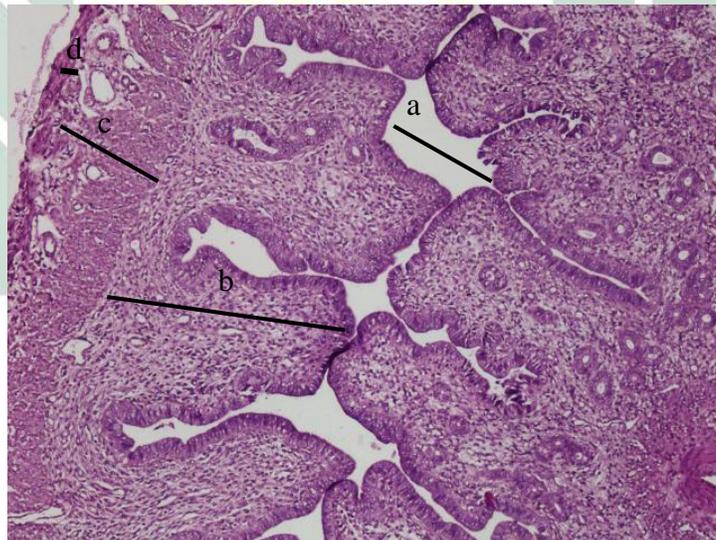
Selanjutnya dilakukan *Test of Homogeneity of Variances* (uji homogenitas) untuk memenuhi asumsi analisis varian satu arah. Didapatkan hasil uji homogenitas dengan tingkat signifikansi  $(p)=0.069 > \alpha= 0.05$  maka  $H_0$  diterima sehingga varians data homogen yang berarti setiap kelompok memiliki data yang bervariasi, kemudian dilanjutkan dengan uji ANOVA.

Hasil uji ANOVA menunjukkan tingkat signifikansi  $(p)= 0.242 > \alpha= 0.05$  maka  $H_0$  diterima sehingga tidak ada perbedaan nyata tebal endometrium pada semua kelompok. Tidak adanya beda nyata pada semua kelompok maka tidak dilakukan uji post hoc. Pada hasil uji ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan yang berarti pemberian ekstrak kurma ruthab tidak berpengaruh secara nyata terhadap tebal endometrium, namun terdapat peningkatan rata-rata tebal endometrium seiring dengan besarnya dosis yang diberikan.

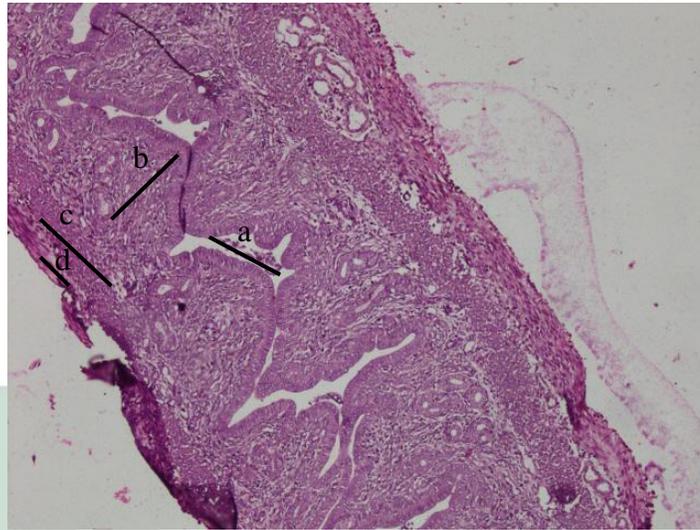
Uterus adalah organ reproduksi betina yang mempunyai fungsi sebagai saluran ovum hingga ke tempat pembuahan serta sebagai tempat implantasi

bagi zigot. Uterus terbagi menjadi tiga lapisan yakni endometrium yang terdiri dari lamina propria dan sel epitel, miometrium yang terdiri dari jaringan otot polos dan perimetrium yang terdiri dari jaringan ikat. Dalam endometrium terdapat kelenjar yang memiliki fungsi sebagai pemberi nutrisi pada ovum yang telah dibuahi, oleh karena itu jaringan dan kelenjarnya beserta miometrium memiliki peranan penting pada tahapan implantasi.

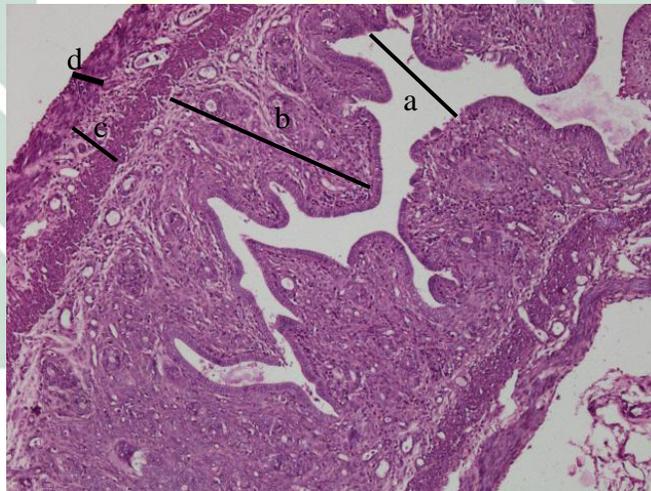
Penelitian ini mengamati sayatan histologi endometrium pada potongan membujur. Pengamatan morfologi dan tebal endometrium dilakukan dengan mikroskop komputer pada perbesaran 4 x 10. Hasil pengamatan dari jaringan uterus dapat dilihat pada Gambar.



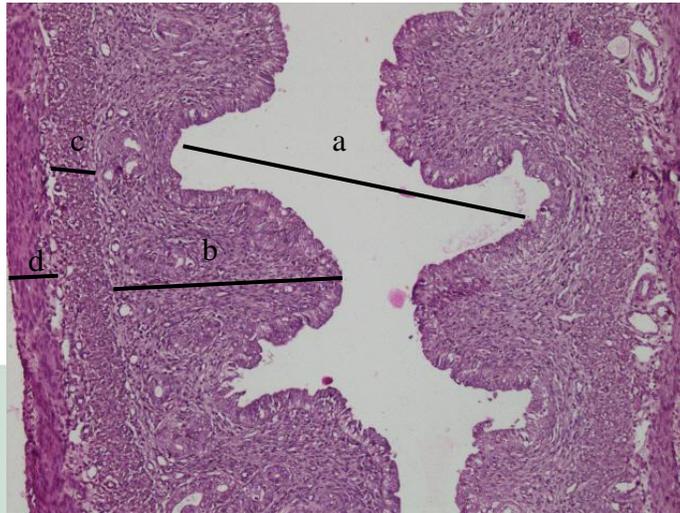
Gambar 5.1. Sayatan membujur endometrium mencit betina pada kelompok kontrol. Kelompok K-: a. Lumen, b. Endometrium, c. Miometrium, d. Perimetrium



Gambar 5.2. Sayatan membujur endometrium mencit betina setelah pemberian ekstrak kurma dosis 1 (1 butir kurma). Kelompok K1: a. Lumen, b. Endometrium, c. Miometrium, d. Perimetrium



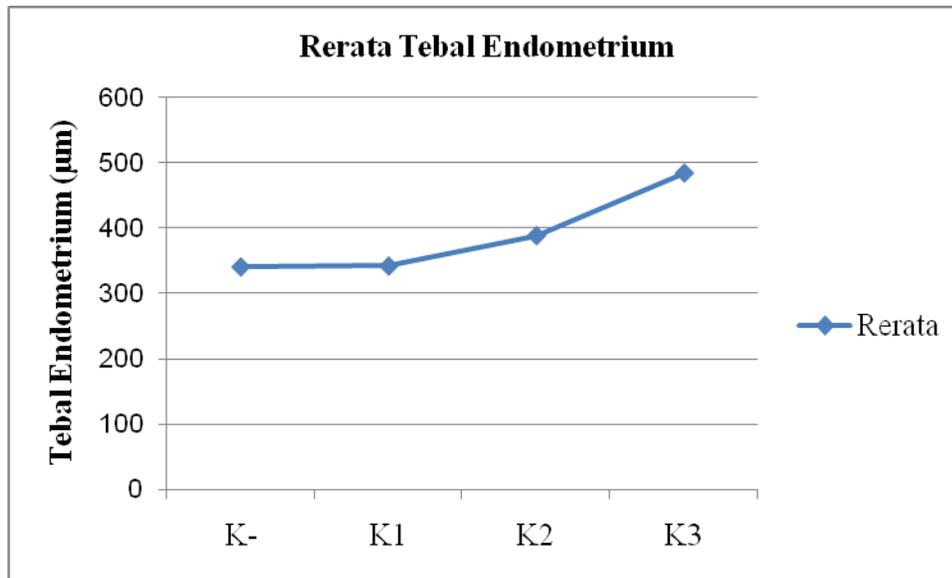
Gambar 5.3. Sayatan melintang endometrium mencit betina setelah pemberian ekstrak kurma ruthab dosis 3 (3 butir kurma). Kelompok K2: a. Lumen, b. Endometrium, c. Miometrium, d. Perimetrium



Gambar 5.4. Sayatan membujur endometrium mencit betina setelah pemberian kurma dosis 7 (7 butir kurma). Kelompok K3: a. Lumen, b. Endometrium, c. Miometrium, d. Perimetrium

Pada pengamatan histologi uterus pada Gambar 1, dapat dilihat bahwa endometrium paling tebal terdapat pada kelompok K3 (kurma dosis 7) dengan tebal rata-rata  $483,68\mu\text{m}$ . Peningkatan tebal endometrium ini diakibatkan adanya aktivitas fitoestrogen.

Berdasarkan data hasil pengukuran tebal endometrium mencit betina setelah diberi perlakuan didapatkan tertinggi pada K3 (dosis 7 kurma) yaitu  $483,68 \pm 43,97\mu\text{m}$ . K- (aquades) yaitu  $339,80 \pm 67,42\mu\text{m}$ , K1 (dosis 1 kurma) yaitu  $341,25 \pm 70,14\mu\text{m}$ , K2 (dosis 3 kurma) yaitu  $387,91 \pm 20,47\mu\text{m}$ .



Gambar 5.5 Grafik Rerata Tebal Endometrium  
Sumber : Dokumen pribadi, 2018

Hasil rerata pengukuran tebal endometrium menunjukkan adanya peningkatan sesuai dengan adanya peningkatan dosis. Pada penelitian ini, didapatkan hasil tertinggi pada K3 (dosis 7 kurma) yaitu  $483,68 \pm 43,97 \mu\text{m}$  yang diduga disebabkan adanya senyawa aktif dari ekstrak buah kurma ruthab sehingga mempengaruhi terhadap ketebalan endometrium. Terdapatnya senyawa fitoestrogen jenis isoflavon yang dimiliki buah kurma diduga dapat meningkatkan aktivitas reseptor estrogen sehingga terjadi peningkatan tebal endometrium. Ketebalan endometrium yang meningkat akan mempermudah proses implantasi oleh zigot, sehingga akan mempermudah dalam kehamilan. Putri (2007) mengungkapkan bahwa tipisnya lapisan dinding endometrium akan memperkecil tingkat kehamilan.

Hadits riwayat saad ra: Rasulullah pernah bersabda:

سَعْدِ بْنِ أَبِي وَقَّاسٍ يَقُولُ سَمِعْتُ سَعْدًا يَقُولُ سَمِعْتُ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ : مَنْ تَصَبَّحَ بِسَبْعِ تَمْرَاتٍ عَجْوَةٍ لَمْ يَضُرَّهُ ذَلِكَ الْيَوْمَ سُمٌّ وَلَا سِحْرٌ

Artinya: “Barang siapa makan 7 buah kurma ajwa diantara dua tanah tak berpasir di Madinah pada waktu pagi, maka racun tidak akan membahayakannya sampai sore hari” (Shahih Muslim No. 3813).

Hadits ini sesuai dengan penelitian bahwa mengkonsumsi 7 butir buah kurma yang memiliki kandungan senyawa fitoestrogen dapat meningkatkan ketebalan endometrium.

Senyawa fitokimia umumnya bekerja melalui 2 mekanisme yaitu melalui efek sitotoksik dan melalui efek gangguan terhadap keseimbangan sistem hormonal. Senyawa flavonoid dan alkaloid memiliki mekanisme kerja dengan menggunakan efek hormonal. Robinson (1995) dalam Rusmiati (2011) menjelaskan bahwa isoflavon dari golongan saponin, alkaloid, dan flavonoid memicu pembentukan estrogen pada mamalia dan memiliki struktur mirip dengan hormon estrogen.

Senyawa isoflavon adalah senyawa metabolit sekunder yang banyak dihasilkan oleh tumbuhan. Struktur isoflavon yang dapat ditransformasi menjadi equol merupakan pemicu aktivitas estrogenik, dimana equol memiliki susunan fenolik yang mirip dengan hormon estrogen. Isoflavon

memiliki gugus OH sebagai struktur kimianya yang juga mirip dengan hormon estrogen (Hernawati, 2014). Susunan isoflavon pada buah kurma mirip dengan estrogen endogen sehingga isoflavon mampu berikatan dengan reseptor estrogen yang berada di folikel sehingga dapat menghasilkan hormon estrogen yang lebih banyak yang mempengaruhi jumlah kelenjar dan ketebalan lapisan endometrium.

Isoflavon memiliki kesamaan struktur dengan 17- $\beta$ -estradiol, sehingga mampu berikatan dengan reseptor estrogen (ER) (Barnes *et al.*, 2000). ERs ditemukan dalam dua bentuk, yaitu ER $\alpha$  dan ER $\beta$  yang memiliki ekspresi berbeda dalam jaringan. ER $\alpha$  memainkan peran utama dalam mediasi aksi estrogen rahim, hipotalamus/hipofisis, tulang, dan jaringan target estrogen lainnya. Sedangkan ER $\beta$  memainkan peran dalam ovarium, sistem kardiovaskular, dan otak. Afinitas genistein ER $\beta$  adalah sekitar 20-30 kali lebih tinggi daripada ER $\alpha$  dan sebanding dengan afinitas 17- $\beta$ -estradiol (Kuiper *et al.*, 1998; Morito *et al.*, 2001).

Pengaruh isoflavon juga tergantung pada tingkat estradiol endogen, karena isoflavon dan estradiol bersaing untuk mengikat ERs. Ketika estrogen endogen tinggi, isoflavon dapat menghambat aktivitas estrogen dengan menduduki bagian dari ERs. Akan tetapi ketika estrogen endogen dalam tingkatan rendah (pria, wanita menopause, setelah ovariectomi, dll) aktivitas estrogen dapat menjadi nyata (Kuiper *et al.*, 1998; Lephart *et al.*, 2002, 2005). Dalam kondisi ini isoflavon lebih banyak dibutuhkan sebagai

alternatif atau pelengkap pengganti hormon pada wanita menopause. Hwang *et al.* (10) menunjukkan bahwa metabolit isoflavon bertindak sebagai agonis ER dalam kondisi estrogen rendah (tingkat postmenopause estradiol) tetapi bertindak sebagai antagonis ER ketika estrogen tinggi (tingkat premenopause estradiol). Primani (2016) juga menjelaskan pemberian biji kacang gude yang mengandung isoflavon daidzen memberikan pengaruh estrogenik pada ovarium dan mammae.

Ketebalan endometrium yang meningkat dikarenakan adanya aktivitas fitoestrogen pada buah kurma yang diduga memiliki pengaruh pada peningkatan jumlah sel dan lamina propia endometrium. Ketebalan endometrium dan secret yang diproduksi oleh kelenjar uterus dapat dipengaruhi oleh berat uterus. Berat uterus juga dipengaruhi oleh ketebalan endometrium karena endometrium adalah lapisan sangat responsif pada perubahan hormon reproduksi, khususnya hormon estrogen.

Johnson dan everitt (1988) menyatakan bahwa hormon estrogen yang dilepaskan ke dalam pembuluh darah dan sampai ke jaringan target dan selanjutnya masuk kedalam sel terjadi melalui 2 mekanisme, yaitu konsentrasi reseptor atau konsentrasi hormon estrogen pada sel/jaringan target. Oleh karena itu, pemberian ekstrak buah kurma ruthab diduga mempengaruhi perubahan konsentrasi hormon estrogen.

Mekanisme sintesis hormon estrogen yang bisa berpengaruh terhadap tebal endometrium yaitu melalui sintesis hormon estrogen pada sel yang ada pada endometrium. Aktivitas estrogen didalam sel terjadi ketika estrogen berikatan dengan reseptor. Estrogen dan reseptor kemudian mengalami difusi ke dalam nukleus dan melekat pada DNA. DNA yang berikatan dengan estrogen-reseptor merangsang sintesis dan ekspresi mRNA berupa sintesis protein sehingga aktivitas sel target naik, dan terjadi proliferasi (Johnson & Everitt, 1988).

Proliferasi pada jaringan uterus diinduksi oleh hormon estrogen. Diduga peningkatan tebal endometrium yang terjadi, dikarenakan oleh mekanisme hormonal dan mekanisme seluler yaitu aktivitas dari antioksidan pada buah kurma. Aktivitas antioksidan memiliki peranan untuk perlindungan terhadap sel target dari toksisitas. Beberapa polifenol memiliki peranan sebagai antioksidan dengan menjaga sel dari kerusakan oksidatif dengan menetralkan oksidan reaktif (Rukmiasih, 2011).

Kemampuan fitoestrogen yang lebih lemah dari pada estrogen alami merupakan penyebab dari perbedaan tidak nyata pada penelitian ini. Potensi dari fitoestrogen yaitu  $10^{-3}$ - $10^{-4}$  kali dibandingkan dengan estrogen alami sehingga meskipun fitoestrogen dapat bergabung dengan reseptor, namun pengaruh yang diberikan tidak sebesar estrogen alami (Hillisch *et al.*, 2004). Selain itu, adanya perubahan siklus reproduksi dapat juga mempengaruhi dari ketebalan endometrium.







- Anugraha, F., 2011. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Kurma Merah (*Zizibus jujuba mill*) terhadap Kadar Trombosit dan Permeabilitas Vaskuler pada Mencit. *Skripsi*. Universitas Airlangga Surabaya.
- Badziad, A. 2003. *Endokrinologi Ginekologi*. Jakarta: Media Aesculapius. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Bahmanpour S, Talaei T, Vojdani Z, et al. 2006. Effect of phoenix dactylifera pollen on sperm parameters and reproductive system of adult male rats. *Iranian Journal of Medical Sciences*. Vol. 31(4): 208-212.
- Balthazart, J., C.A. Cornil, T.D. Charlier, M. Taziaux and G.F. Ball. 2009. Estradiol, a key endocrine signal in the sexual differentiation and activation of reproductive behavior in quail. *Journal of Experimental Zoology Ecological Genetics and Physiology*. Vol. 311(5): 323-345.
- Beral V. 2003. Breast Cancer and Hormon Replacement Therapy in Women Study. *The Lancet*. Vol. 362: 413- 427.
- Brook CGD & NJ Marshall. 1996. *Essential Endocrinology*. Edisi Ketiga. United Kingdom: Blackwell Publishing.
- Campbell. N.A., J.B. Reece., L.A.Urry., M.L. Cain., S.A. Wasserman., P.V. Minorsky., dan R.B. Jackson. 2010. Biologi Campbell Edisi 8 Jilid III. Erlangga. Jakarta.
- Cavalcanto, Todd D. 2007. Hormone Regilated Inflammatory of the Immature Rat Uterus in Responce TO Leukocyte Infiltration and MMP activation. *Journal of ProQuest*.
- Faber KA, Hughes CL Jr. 1993. Dose-response characteristics of neonatal exposure to genistein on pituitary responsiveness to gonadotropin releasing hormone and volume of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area (SDN-POA) in postpubertal castrated female rats. *Reprod Toxicol*. Vol. 7: 35-9.
- Feradis. 2010. *Reproduksi ternak*. Bandung. Alfabeta.
- Fernandez, M. A. M., Wiratmini, N. I., Ermayanti, N. G. A. M. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ekor Naga (*Rhaphidophora pinnata*, Schott) terhadap Perkembangan Uterus Mencit (*Mus musculus*) Betina yang Telah Diiovarektomi. *Jurnal Biologi*. Vol 19 (2).
- Gunawan, Aris. 2009. Perbandingan Efek Analgesik antara Parasetamol dengan Kombinasi Parasetamol dan Kafein pada Mencit. *Jurnal Biomedika*, Vol. 1 (1).

- Guyton, C.A. 1990. *Fisiologi Manusia Dan Mekanisme Penyakit (Human Physiology an Mechanisms of Disease)*; Alihbahasa, Petrus Andrianto. Jakarta: EGC.
- Hernawati. 2011. *Perbaikan Kinerja Reproduksi Akibat Pemberian Isoflavon dari Tanaman Kedelai*. Jurusan Pendidikan Biologi FPNIPA Universitas Pendidikan Indonesia.
- Heffner, Linda J dan Schust, Danny J. 2006. *At a Glance Sistem Reproduksi Edisi Kedua*. Jakarta : Erlangga
- Jordan, V.Craig. 2004. Selective Estrogen Receptor Modulation: Concept and Consequences in Cancer. *Cancer Cel*. Vol. 15: 207-213.
- Junqueira, L.C., 2007. *Persiapan jaringan untuk pemeriksaan mikroskopik. Histology dasar* .edisi 10. Jakarta: EGC
- Kartodirdjo, Sartono. 1993. *Pendekatan Ilmu Sosial dalam Metodologi Sejarah, Bertram G. Katzung - Basic Clinical Pharmacology 12th Edition 2011*
- Katzung, B.G. 2011. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 10*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Kim H, Peterson TG, dan Barnes S. 1998. Mechanism of Action of the Soy Isoflavone Genestein: Emerging Role of its Effects Through Transforming Growth Factor Beta Signaling. *Am J Clin Nutr*. Vol. 68: 1418S–1425S.
- Kouki T, Kishitake M, Okamoto M, Oosuka I, Takebe M, Yamanouchi K. 2003. Effects of neonatal treatment with phytoestrogens, genistein and daidzein, on sex difference in female rat brain function: estrous cycle and lordosis. *Horm Behav*. Vol. 44:140-5.
- Kruger RR. 2007. The Date Palm (*Phoenix dactylifera L.*): overview if biology, uses, and cultivation. *Hortscience*. Vol. 42(5).
- Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, Van Dersaag PT, Van Derburg B, Gustafsson JA. 1998. Interaction of Estrogenic Chemicals and Phytoestrogens With Estrogen Receptor Beta. *Endocrinology*. Vol. 139: 4252-4263.
- Lephart ED, West TW, Weber KS, Rhees RW, Setchell KD, Adlercreutz H, Lund TD. 2002. Neurobehavioral effects of dietary soy phytoestrogens. *Neurotoxicol Teratol* 24: 5-16, 2002.

- Lephart ED, Setchell KD, Lund TD. 2005. Phytoestrogens: Hormonal Action and Brain Plasticity. *Brain Res Bull*. Vol. 65: 193-198.
- Lusiana, Nova. 2017. Pengaruh Fitoestrogen Daging Buah Kurma Ruthab (*Phoenix dactylifera*) terhadap Sinkronisasi Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus*) Betina. *Klorofil*. Vol 1(1): 24-31.
- Matthews, J., and Gustafsson, J. 2003. Estrogen signaling: a subtle balance between ER $\alpha$  and ER $\beta$ , *Molecular Interventions*. Vol. 3: 281-292.
- May, M., 1971, Estrogenic and Antiestrogenic Agents in Robert A. Turner and Peter Hebborn (eds), *Screening Methods in Pharmacology*, vol II, Academic Press, New York, 85-100.
- Mayes PA, VW Rodwell, DK Granner & DW Martin. 1985. *Biokimia Harper*. Terjemahan Iyan Darmawan, 1987. Edisi Keduapuluh. Jakarta: EGC.
- Murray, K.R, Garner, K.D, Mayes, A.P, Rodwell, W.V. 2003. *Biokimia Harper Edisi 25*; Alihbahasa, Anna.P.Bani, Tiara M.N, Sikumbang. Jakarta: EGC.
- Morito K, Hirose T, Kinjo J, Hirakawa T, Okawa M, Nohara T, Ogawa S, Inoue S, Muramatsu M, Masamune Y. 2001. Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors alpha and beta. *Biol Pharm Bull*. Vol. 24: 351-356.
- Moshfegh F, Baharara J, Farideh N, Saeedeh Z, Elaheh A, Lobat J. 2016. Effects of date palm pollen on fertility and development of reproductive system in female Balb/C mice. *J HerbMed Pharmacol*. Vol. 5(1): 23-28.
- Nagao T, Yoshimura S, Saito Y, Nakagomi M, Usumi K, Ono H. 2001. Reproductive effects in male and female rats of neonatal exposure to genistein. *Reprod Toxicol*. Vol. 15: 399-411.
- Parandi R, Yousofvand N, Ghorbani R. 2012. The enhancing effects of alcoholic extract of *Nigella sativa* seed on fertility potential, plasma gonadotropins and testosterone in male rats. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*. Vol. 10(4): 355-362.
- Prawirohardjo, S. 2008. *Ilmu Kebidanan*. Bina Pustaka. Jakarta. 130 – 136.
- Pawiroharsono, S., 2001. Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan. <http://www.tempo.co.id/medika/arsip/042001/pus-2.htm>. 12 juli 2018.
- Primiani, Cicilia Novi. 2013. Potensi Tepung Tempe sebagai Estrogen Alami terhadap Uterus Mencit Premenopause. *Jurnal Sains & Mat*. Vol. 1(2): 47-51.

- Primiani, Cicilia Novi. 2016. Characteristics of Pigeon Pea (*Cajanus cajan*) Isoflavon Daidzein in Blood on Ovarian and Mammary Tissue Structure Rat Female. *Proceeding Biology Education Conference*. Vol 13(1): 593-597.
- Putri,R. 2007. Struktur Mikroanatomi Uterus Mencit (*Mus musculus* ) Galur swiss setelah pemberian Ekstrak Kulit Batang Durian (*Durio zibethinus* Murr). *Skripsi*. FMIPA Unlam. Banjarbaru.
- Putrie, Safira Widhita. 2014. Pengaruh Kombinasi Buah Stroberi (*Fragraria Vesca*) dan Buah Kurma (*Phoenix dactilyfera*) Terhadap Penurunan Tekanan Darah Normal pada Pria Dewasa. *Other thesis*. Universitas Kristen Maranatha.
- Rahmadi, A. 2010. *Kurma Samarinda: Food Technologist, Neuro-biologist, and Pharmacologist*. University of Mulawarman.
- Rahmani AH, Aly SM, Ali H, Babiker AY, Srikar S, Khan AA. 2014. Therapeutic effects of date fruits (*Phoenix dactylifera*) in the prevention tumor activity. *Int J Clin Exp Med*. Vol. 7(3): 483-91
- Ritcher, D. U., Abarzua, S., Chrobak, M., Scholz, C., Kuhn, C., Schulze, S., Kupka, M. S., Friese, K., Briese, V., Piechulla, B., & Jesche, U. 2010. Effect of Phytoestrogen Extracts Isolated from Flax on Estradiol Production and ER/PR Expression in MCF7 Breast Cancer Cells. *Anticancer Research*. Vol. 5: 1695-1699.
- Satuhu, S. 2010. *Kurma, Khasiat dan Olahannya*. PT. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Scanlon, C.V, dan Sanders, T. 1991. *Essentials of Anatomy and Physiology*. F.A Philadelphia: Davis Company.
- Shabib W, Marshall RJ. 2003. The Fruit of the Date Palm: Its Possible Use As The Best Food For Future?. *Internatonal Jurnal of Food Sciences and Nutrition*. Vol. 54 (4): 247-59.
- Sheehan DM. 2005. The Case for Expanded Phytoestrogen Research. *Proc Soc Exp Biol Med*. Vol. 208: 5-3.
- Sherwood, L,. 2001. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Edisi 2. Alih bahasa Brahm U. Pendit; Editor Beatricia I. Santoso. Jakarta:EG
- Sitasiwi, A.J. 2009. Efek Paparan Tepung Kedelai Dan Tepung Tempe Sebagai Sumber Fitoestrogen Terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Uterus Mencit (*Mus musculus* L.). *Ejurnal UNDIP*. Vol. 17 (1): 4.

- Suyanto, A. 2006. Rodent Di Jawa, LIPI Seri panduan Lapangan, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor.
- Thompson LU, J Chen, E Hui, J Mann, and T Ip, 2004. *Interactive effects of Flax seeds and tamoxifen on human breast cancer*. Proc. 60th Congress of Flax Institute, Fargo, ND, USA, pp: 86-90.
- Triwani. 2013. Faktor Genetik Sebagai Salah Satu Penyebab Infertilitas Pria. Palembang: Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.
- Tsourounis C. 2004. Clinical Effects of Fitoestrogens. *Clin Obs Gyn*. Vol. 44(4): 836-42.
- Vries, E.de, D. Tonkelaar, P. A. H. Van Noord, Y. T. Van der Schouw, E. R. te Velde, 2006, Oral Contraceptive use in relation to age at menopause in Turkish Women in rural area, *Saudi Med J.*, Vol 27(9): 1381-1386
- Wang, C. dan M.S. Kurzer, 2003. Phytoestrogen Concentration Determines Effects on DNA Synthesis in Human Breast Cancer Cells. *Nutrition and Cancer*. Vol. 28(3)
- Whitten, P. L. and H.B. Pattisaul. 2001. Cross-species and Interassay Comparison of Phytoestrogen Action. *Environmental Health Perspectives Supplements Journal*. Vol. 109: 5-20.
- Yatim W. 1994. *Reproduksi dan Embriologi*. Tarsito. Bandung.
- Yatim, W. 1996. *Histologi*. Bandung : PT Tarsio