



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TEPUNG KEDELAI HITAM
(*Glycine soja*) PADA KINERJA REPRODUKSI MENCIT (*Mus musculus*)
STRAIN BALB/C PASCA OVARIKTOMI UNILATERAL**

SKRIPSI

Oleh :
Nur Farkah
NIM 141810401005

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TEPUNG KEDELAI HITAM
(*Glycine soja*) PADA KINERJA REPRODUKSI MENCIT (*Mus musculus*)
STRAIN BALB/C PASCA OVARIKTOMI UNILATERAL**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh:

**Nur Farkah
NIM 141810401005**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Dengan nama Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, skripsi ini penulis persembahkan kepada:

1. Ibunda Sri Utami dan Ayahanda Sugiono tercinta, terimakasih atas segala limpahan do'a, kasih sayang, pengorbanan, kesabaran mendidik serta dukungan yang tiada henti;
2. keluarga besar tercinta yang telah memberi doa, motivasi, dan dukungan;
3. guru-guruku TK Dharma Wanita, SDN 1 Blimbing, SMPN 1 Rejotangan, SMAN 1 Rejotangan yang telah mendidik dan membagikan ilmunya;
4. Almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTO

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu, Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui”

(QS. Al-Baqarah : 216)

“Wahai orang-orang yang beriman! Bersabarlah kamu dan kuatkanlah kesabaranmu dan tetaplah bersiap siaga (di perbatasan negerimu) dan bertakwalah kepada Allah agar kamu beruntung”

(QS. Ali Imran : 200)

***) Kementerian Agama Republik Indonesia, Yayasan Penyelenggara Penerjemah /Penafsiran Al Qur'an. 2009. *Mushaf Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Bogor: Nur Publishing.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Nur Farkah

NIM : 141810401005

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Pengaruh Pemberian Ekstrak Tepung Kedelai Hitam (*Glycine soja*) pada Kinerja Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Strain Balb/C Pasca Ovariektomi Unilateral" adalah benar-benar hasil karya ilmiah sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Penelitian ini didanai oleh Dra. Mahriani, M.Si dan dengan sumber dana mandiri tidak dapat dipublikasikan tanpa izin dari pihak yang mendanai. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 21 Juni 2018

Yang Menyatakan,

Nur Farkah

NIM 141810401005

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TEPUNG KEDELAI HITAM
(*Glycine soja*) PADA KINERJA REPRODUKSI MENCIT (*Mus musculus*)
STRAIN BALB/C PASCA OVARIEKTOMI UNILATERAL**



Oleh
Nur Farkah
NIM 141810401005

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dra. Mahriani, M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Pengaruh Pemberian Ekstrak Tepung Kedelai Hitam (*Glycine soja*) Pada Kinerja Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Strain Balb/C Pasca Ovariectomi Unilateral**”, telah diuji dan disahkan pada:
hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Jember.

Tim Penguji,

Ketua,

Anggota I,

Dra. Mahriani, M.Si
NIP 195703151987022001

Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd
NIP 195805281988021002

Anggota II,

Anggota III,

Eva Tyas Utami, S.Si, M.Si
NIP 197306012000032001

Dra. Susantin Fajariyah, M.Si
NIP 196411051989022001

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Sujito, Ph.D
NIP 196102041987111001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Tepung Kedelai Hitam (*Glycine soja*) Pada Kinerja Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Strain Balb/C Pasca Ovariectomi Unilateral; Nur Farkah, 141810401005; 2018: 35 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Kinerja reproduksi merupakan kemampuan betina untuk menghasilkan anak yang dipengaruhi oleh organ reproduksi baik primer maupun sekunder, tingkat fertilitas, dan hormon. Hormon yang berperan dalam proses reproduksi adalah hormon estrogen. Hormon estrogen berfungsi untuk merangsang perkembangan organ reproduksi, perkembangan organ seks sekunder, dan memicu proliferasi sel endometrium uterus untuk implantasi. Kadar hormon estrogen dapat mengalami penurunan pasca ovariectomi unilateral. Penurunan kadar estrogen akibat ovariectomi dapat ditanggulangi dengan pemberian senyawa fitoestrogen. Fitoestrogen merupakan senyawa yang bersifat estrogenik yang dapat digunakan sebagai sumber estrogen eksogen. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak tepung kedelai hitam pada kinerja reproduksi mencit (*Mus musculus*) pasca ovariectomi secara unilateral dengan waktu pemberian yang lebih lama.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan hewan uji berupa mencit strain Balb/C sebanyak 24 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kontrol negatif (mencit tanpa ULO, tanpa pemberian ekstrak tepung kedelai hitam), kontrol positif (mencit ULO, tanpa pemberian ekstrak tepung kedelai hitam), dosis 1 (mencit ULO, diberi ekstrak tepung kedelai hitam dosis 0,42 g/ml/hari) dan dosis 2 (mencit ULO, diberi ekstrak tepung kedelai hitam dosis 0,63 g/ml/hari). Pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dilakukan secara oral (*gavage*) dengan cara mencampurkan ekstrak tepung kedelai dalam 1 ml aquades. Perkawinan mencit betina dan jantan dilakukan pada hari ke-31 setelah perlakuan (saat malam hari). Mencit setiap kelompok dibedah pada hari ke-15 kebuntingan untuk menghitung jumlah korpus luteum dan jumlah fetus. Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan SPSS versi 22.0

uji nonparametrik *Kruskal-Walis* dengan taraf kepercayaan 95% atau nilai sig $\alpha = 0,05$. Selanjutnya, untuk mengetahui beda nyata antar kelompok dilakukan uji lanjutan non parametrik *Wilcoxon*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dengan dosis 0,42 g/ml/hari mampu meningkatkan jumlah korpus luteum dan jumlah fetus. Dosis 0,63 g/ml/hari mampu meningkatkan jumlah korpus luteum, namun cenderung menurunkan jumlah fetus. Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak tepung kedelai hitam pada mencit ovariektomi unilateral dapat meningkatkan jumlah korpus luteum dan jumlah fetus pada dosis 0,42 g/ml/hari.

PRAKATA

Puji Syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Tepung Kedelai Hitam (*Glycine soja*) pada Kinerja Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) Pasca Ovariectomi Unilateral”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Dra. Mahriani, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran serta perhatiannya guna memberikan bimbingan dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
2. Eva Tyas Utami, S.Si, M.Si., selaku Dosen Penguji I dan Dra. Susantin Fajariyah, M.Si., selaku Dosen Penguji II, yang telah membantu memberikan saran serta kritik dalam penulisan skripsi ini;
3. Dr. Retno Wimbaningrum, M.Si. dan Fuad Bahrul Ulum, S.Si., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing serta memberikan masukan dan saran selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Ir. Efi Fadjriyah E.D, M.ST., selaku Teknisi Laboratorium Zoologi yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membantu demi kelancaran selama penulis melakukan penelitian;
5. adikku Yoggi Pratama., dan keluarga besarku terimakasih atas limpahan kasih sayang dan do'anya demi terselesaikannya skripsi ini;
6. rekan kerja selama penelitian Iis Maghfiroh, Masrrotul Hasanah, Siti Nur Aisyah, Nur Aisyah Septiana, dan Dwi Ayu Nur Isadatul Ilmiah terima kasih atas kerjasamanya, kalian partner kerja sekaligus keluarga baru yang tidak akan pernah tergantikan;

7. teman-teman di laboratorium zoologi Maulfi Dwi Lestari, Lidia Maziyatun Nikmah, Sofiwati Elok, dan Yeni Febriana terimakasih atas do'a serta dukungannya;
8. sahabat-sahabatku FKMT Tulungagung, Eka, Emitria, Novia, Nur Halimah, Bima, Rico, Galih, Ilham, Anna, Melisa, dan Ferynita terima kasih atas segala bantuan, do'a, masukan serta semangat yang kalian berikan kepada penulis, terima kasih untuk kalian yang rela mendengarkan keluh kesah penulis selama menyusun skripsi;
9. teman-teman Bivalvia tercinta (angkatan 2014) Jurusan Biologi Universitas Jember yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu;
10. semua pihak yang telah memberikan sumbangan tenaga, semangat, dan pikiran yang tidak dapat disebutkan satu persatu oleh penulis dalam kelancaran penulisan skripsi ini.

Penulis juga menerima kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 21 Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	2
1.1 Latar Belakang	2
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Batasan Masalah.....	3
1.5 Manfaat.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Fisiologi Reproduksi Betina.....	4
2.2 Peran Hormon Estrogen Terhadap Reproduksi Betina	6
2.3 Kandungan Isoflavon pada Kedelai Hitam dan Pengaruhnya Terhadap Reproduksi Betina	8
2.4 Hipotesis	9
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	10
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.2.1 Alat.....	10

3.2.2 Bahan	10
3.3 Rancangan Penelitian.....	11
3.4 Tahap Penelitian	13
3.4.1 Persiapan Hewan Uji.....	13
3.4.2 Preparasi Mencit Ovariectomi Unilateral	13
3.4.3 Pembuatan Ekstrak Tepung Kedelai Hitam.	14
3.4.4 Perlakuan Hewan Uji	14
3.4.5 Perkawinan Mencit Jantan dan Betina	14
3.4.6 Pengamatan Kinerja Reproduksi	15
3.5 Parameter Penelitian	15
3.6 Analisis Data	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	16
4.1 Pengaruh Ekstrak Tepung Kedelai Hitam Terhadap Jumlah Korpus Luteum Mencit (<i>Mus musculus</i>) Strain Balb/C Ovariectomi Unilateral	16
4.2 Pengaruh Ekstrak Tepung Kedelai Hitam Terhadap Jumlah Fetus Mencit (<i>Mus musculus</i>) strain Balb/C Ovariectomi Unilateral.....	19
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	12
5.1 Kesimpulan.....	12
5.2 Saran	12
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN.....	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Rata-rata jumlah korpus luteum mencit strain Balb/C ovariektomi unilateral pasca pemberian ekstrak tepung kedelai hitam.....	16
4.2 Rangking jumlah korpus luteum mencit strain Balb/C ovariektomi unilateral pasca pemberian ekstrak tepung kedelai hitam.....	17
4.3 Rata-rata jumlah fetus mencit strain Balb/C ovariektomi unilateral pasca pemberian ekstrak tepung kedelai hitam.....	19
4.4 Rangking jumlah fetus mencit strain Balb/C ovariektomi unilateral pasca pemberian ekstrak tepung kedelai hitam.....	20

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tahap ovulasi sampai terjadi implantasi pada tikus.....	5
2.2 Embrio pada uterus tikus umur kebuntingan 12 hari.....	6
2.3 Struktur kimia hormon estrogen.....	7
2.4 Struktur kimia daidzein dan genistein.....	8
3.1 Alur penelitian.....	12
4.1 Korpus luteum mencit.....	18
4.2 Grafik pengaruh ekstrak tepung kedelai hitam terhadap jumlah korpus luteum mencit strain Balb/C pasca ULO.....	19
4.3 Fetus mencit umur kebuntingan 15 hari.....	22
4.4 Grafik pengaruh ekstrak tepung kedelai hitam terhadap jumlah fetus mencit strain Balb/C pasca ULO.....	22

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Penentuan dosis.....	32
B. Hasil analisis uji <i>Kruskal-Wallis</i> pengaruh ekstrak tepung kedelai hitam terhadap jumlah korpus luteum dan jumlah fetus mencit pasca ovariektomi unilateral.....	33
C. Hasil analisis uji <i>Wilcoxon</i> pengaruh ekstrak tepung kedelai hitam terhadap jumlah korpus luteum dan jumlah fetus mencit pasca ovariektomi unilateral.....	35

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kinerja reproduksi merupakan kemampuan betina untuk menghasilkan anak sehingga dapat digunakan untuk melestarikan dan mempertahankan hidup (Pramono, 2006). Keberhasilan betina dalam menghasilkan anak didukung oleh organ reproduksi baik primer maupun sekunder, tingkat fertilitas, dan hormon. Organ reproduksi betina berfungsi untuk menghasilkan gamet dan sebagai tempat perkembangan embrio. Fungsi organ reproduksi tersebut, dimulai ketika mencapai tahap pubertas (Toelihere, 1981).

Pubertas pada hewan betina ditandai dengan terjadinya estrus dan ovulasi (Toelihere, 1981). Ketika mencapai pubertas, terjadi peningkatan sekresi *gonadotropin releasing hormone* (GnRH) dari hipotalamus. GnRH akan berikatan dengan reseptor di hipofisis sehingga sel-sel gonadotrop akan mengeluarkan *luteneizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH). FSH akan menstimulus perkembangan folikel dan folikel yang matang akan mensekresikan hormon estrogen (Sherwood, 2010).

Hormon estrogen merupakan hormon steroid yang dihasilkan oleh sel teka dan sel granulosa pada folikel. Sel teka akan menghasilkan androgen yang berdifusi ke dalam sel granulosa. Sel granulosa mengandung enzim aromatase sehingga dapat mengubah androgen menjadi estrogen (Sherwood, 2010). Estrogen berperan dalam perkembangan organ reproduksi, perkembangan organ seks sekunder, dan memicu proliferasi sel endometrium uterus untuk implantasi (Guyton dan Hall, 2006). Selain itu estrogen juga berperan untuk merangsang terjadinya estrus dan perkembangan kelenjar mammae pada saat pubertas (Ganong, 2003).

Kadar hormon estrogen dapat mengalami penurunan pasca ovariektomi unilateral (Alagwu *et al.*, 2005). Defisiensi estrogen akibat ovariektomi dapat menurunkan jumlah folikel pada ovarium (Morán *et al.*, 2000). Selain itu menurut Ganong (2003), kekurangan kadar hormon estrogen menyebabkan miometrium atropi dan inaktif, sehingga blastokis tidak mengalami implantasi. Penurunan

kadar estrogen akibat ovariectomi dapat ditanggulangi dengan pemberian senyawa fitoestrogen. Fitoestrogen merupakan senyawa yang bersifat estrogenik yang berasal dari tumbuhan (Whitten dan Patisaul, 2001). Salah satu penelitian terkait pemanfaatan senyawa fitoestrogen telah dilakukan oleh Fernandez *et al.* (2015) dengan memberikan ekstrak daun ekor naga dosis 100 mg/kgBB selama 14 hari yang dapat meningkatkan ketebalan endometrium dan diameter uterus pada mencit ovariectomi.

Fitoestrogen memiliki tiga senyawa utama yaitu isoflavon, lignin, dan coumestan yang banyak ditemukan pada biji-bijian (Murkies *et al.*, 1998). Salah satu tanaman yang mengandung senyawa isoflavon adalah kedelai hitam (Cederroth dan Nef, 2009). Kandungan isoflavon pada kedelai hitam 2,57 mg lebih tinggi dibandingkan dengan kedelai kuning 0,50 mg (Xu dan Chang, 2007). Isoflavon pada kedelai hitam terdiri atas genistein 56,9%, daidzein 40,5%, dan glycitein 2,6% (Nakamura *et al.*, 2001). Komponen isoflavon tersebut memiliki sifat estrogenik sehingga dapat berikatan dengan reseptor estrogen (RE), khususnya reseptor estrogen β dalam sel tubuh (Mazur *et al.*, 1998 ; Kuiper *et al.*, 1998).

Menurut Suprihatin (2008) pemberian tepung tempe 5 g bk/100 g bb /hari selama 28 hari dapat meningkatkan jumlah korpus luteum dan jumlah embrio pada tikus. Pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dengan dosis 0,31 g/ml/hari selama 10 hari dapat meningkatkan jumlah implantasi pada mencit pasca ovariectomi unilateral 7 hari (Lestari, 2017). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak tepung kedelai hitam pada kinerja reproduksi mencit (*Mus musculus*) pasca ovariectomi secara unilateral dengan waktu pemberian yang lebih lama.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dapat meningkatkan kinerja reproduksi meliputi, jumlah korpus luteum dan jumlah fetus yang dihasilkan mencit (*Mus musculus*) strain Balb/C pasca ovariectomi unilateral ?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tepung kedelai hitam terhadap jumlah korpus luteum dan jumlah fetus mencit (*Mus musculus*) strain Balb/C pasca ovariektomi unilateral.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah ovariektomi unilateral (ULO) dilakukan dengan pengambilan ovarium sebelah kanan pada mencit betina (*Mus musculus*) strain Balb/C dengan masa *recovery* selama 90 hari.

1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu sumber informasi ilmiah tentang pemanfaatan ekstrak tepung kedelai hitam sebagai sumber fitoestrogen yang dapat digunakan sebagai salah satu alternatif untuk meningkatkan keberhasilan kinerja reproduksi.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

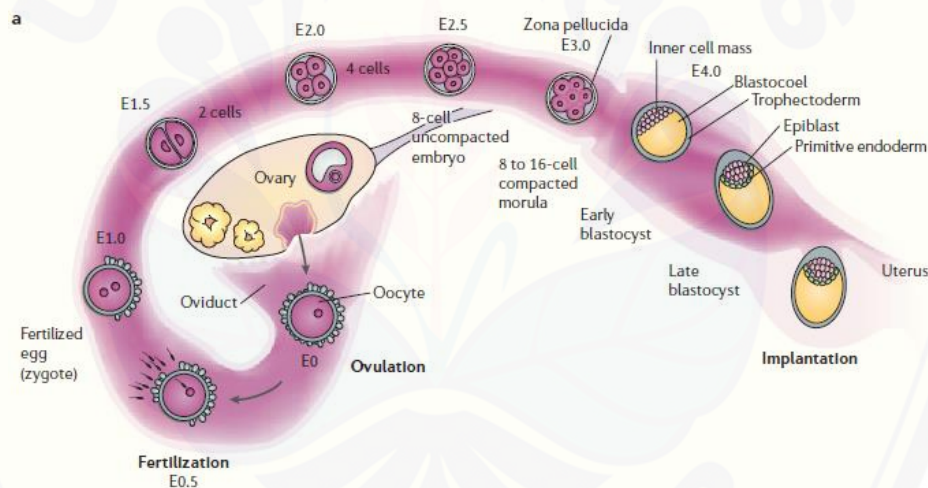
2.1 Fisiologi Reproduksi Betina

Organ reproduksi mulai berfungsi setelah mengalami pubertas (Ganong, 2003). Pubertas pada hewan betina ditandai oleh terjadinya estrus dan ovulasi (Toelihere, 1981). Ketika mencapai pubertas, GnRH akan berikatan dengan reseptor di hipofisis sehingga sel-sel gonadotrop akan mengeluarkan *luteneizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH) untuk merangsang produksi hormon estrogen (Sherwood, 2010).

Mencit bersifat poliestrus yaitu hewan yang memiliki siklus estrus lebih dari dua kali dalam satu tahun (Turner dan Bagnara, 1988). Pada mencit, satu kali siklus estrus berlangsung selama 4-5 hari. Siklus estrus dipengaruhi dan diatur oleh hormon gonadotropin (FSH dan LH) serta hormon reproduksi (estrogen dan progesteron). Siklus estrus dibagi menjadi 4 stadium, yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Fase proestrus merupakan fase perkembangan folikel. Pada fase ini FSH akan mempengaruhi perkembangan folikel de Graaf (Toelihere, 1981). Kadar hormon FSH dan estrogen mulai meningkat, saluran mukosa vagina mengalami vaskularisasi dan banyak mensekresikan mukus yang tebal dan berlendir (Partodihardjo, 1980).

Fase estrus merupakan tahap pematangan folikel de Graaf hingga mencapai ovulasi dan siap melakukan kopulasi. Pada fase ini ujung tuba fallopi yang berfimbria mendekat ke folikel de Graaf sehingga siap menerima sel telur yang diovulasikan (Toelihere, 1981). Kadar estrogen meningkat menjelang fase estrus yang menyebabkan penghambatan terhadap sekresi FSH dan merangsang sekresi LH untuk terjadinya ovulasi (Hafez *et al.*, 2000). Setelah terjadi ovulasi, ovarium akan mengalami fase luteal yaitu fase pembentukan korpus luteum yang akan menghasilkan progesteron (Turner dan Bagnara 1988). Fase metestrus ditandai dengan terbentuknya korpus luteum. Pada fase ini, kadar estrogen menurun dan vaskularisasi berkurang sehingga terjadi pelepasan sel-sel epitel vagina dan infiltrasi leukosit (Baker *et al.*, 1980).

Korpus luteum yang terbentuk akan memproduksi progesteron dalam jumlah yang banyak untuk mempertahankan kebuntingan (Hillier, 2001). Sel telur yang telah diovulasikan akan menuju ke tuba fallopi untuk melakukan fertilisasi membentuk zigot jika bertemu dengan sel sperma. Zigot akan mengalami pembelahan mitosis hingga membentuk massa sel (morula). Kemudian morula akan berdeferensiasi membentuk blastokis yang mengandung rongga (*blastocoel*) menuju ke lumen uterus. Blastokis terdiri atas *inner cell mass* (ICM) dan trophoctoderm. Pada bagian luar, blastokis dibungkus oleh zona pelusida (Horse *et al.*, 2004; Wang dan Dey, 2006). Blastokis yang telah terbentuk akan menuju ke dinding endometrium untuk melakukan proses implantasi. Proses implantasi melibatkan interaksi antara blastokis dengan uterus (Hu *et al.*, 2008). Tahap implantasi pada tikus dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Tahap ovulasi sampai terjadi implantasi pada tikus (Wang dan Dey, 2006).

Tahap pertama implantasi dimulai dengan aposisi yaitu interaksi antara blastokis dengan endometrium. Tahap kedua adalah proses perlekatan blastokis yaitu penempelan trofoblas dengan dinding endometrium yang dimediasi oleh molekul adhesi, sel imun, dan sitokin. Tahap akhir dari proses implantasi adalah invasi, pada tahap ini jaringan endometrium dan sel trofoblas akan melakukan infiltrasi ke dalam endometrium membentuk *anchoring vili* untuk menyiapkan nutrisi pada fetus yang berasal dari induk (Mourik *et al.*, 2009). Lama kebuntingan mencit berkisar antara 19-21 hari (Smith dan Mangkoewidjojo,

1988). Kemampuan induk mencit dalam menghasilkan anak dipengaruhi oleh jumlah sel telur yang diovulasikan, keberhasilan fertilisasi dan implantasi serta perkembangan embrio di dalam uterus selama kebuntingan (Suprihatin, 2008). Terbentuknya embrio pada uterus dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Embrio pada uterus tikus umur kebuntingan 12 hari (Sumber : Suprihatin, 2008).

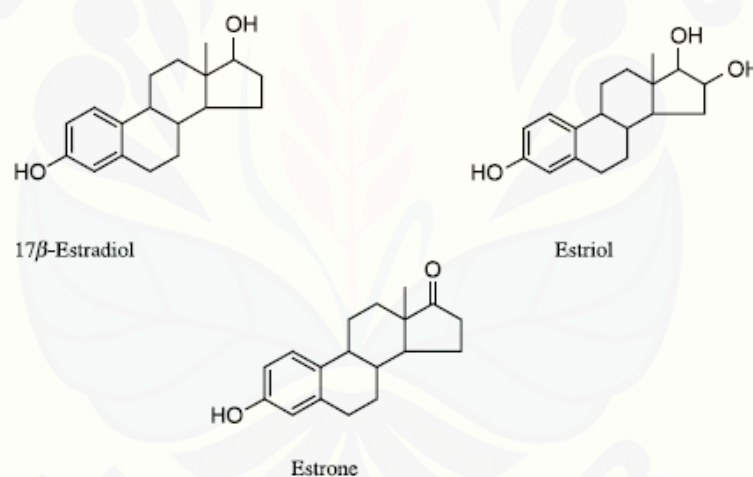
Diestrus merupakan periode akhir dari siklus estrus. Pada fase ini kadar estrogen rendah karena dihambat oleh kadar progesteron yang tinggi sehingga menyebabkan uterus tidak mengalami kontraksi, endometrium menebal, dan kelenjar uterina mengalami hipertrofi. Perubahan ini ditunjukkan untuk mensuplai nutrisi pada embrio bila terjadi kebuntingan. Kondisi ini akan terus berlangsung selama masa kebuntingan dan korpus luteum akan dipertahankan sampai akhir masa kebuntingan (Turner dan Bagnara, 1988).

2.2 Peran Hormon Estrogen Terhadap Reproduksi Betina

Hormon estrogen dan progesteron termasuk dalam golongan hormon steroid yang berperan dalam proses reproduksi (Ruggiero *et al.*, 2002). Hormon estrogen dihasilkan oleh sel teka dan sel granulosa pada folikel. Sel teka akan menghasilkan androgen yang berdifusi ke dalam sel granulosa. Sel granulosa mengandung enzim aromatase sehingga dapat mengubah androgen menjadi estrogen (Sherwood, 2010). Hormon estrogen pada reproduksi betina ditemukan

dalam bentuk β -estradiol, estron, dan estriol. Struktur kimia hormon estrogen dapat dilihat pada Gambar 2.3.

Estrogen yang utama disekresikan oleh ovarium adalah β -estradiol. β -estradiol memiliki potensi estrogenik 12 kali lebih besar dari estron dan 80 kali lebih besar dari estriol (Guyton dan Hall, 2006). Hormon estrogen mempengaruhi pertumbuhan, perkembangan, pematangan organ, dan saluran reproduksi (Ganong, 2003). Selain itu estrogen juga berperan dalam meningkatkan proliferasi sel-sel granulosa pada folikel dan merangsang proliferasi endometrium uterus sehingga lingkungan uterus lebih reseptif untuk implantasi embrio (Groothuis *et al.*, 2007 ; Wang dan Dey, 2006). Ulfa (2017) menyatakan bahwa, isoflavon pada ekstrak tepung kedelai hitam dapat meningkatkan jumlah kelenjar endometrium, tebal endometrium, dan tebal miometrium pada mencit ovariektomi unilateral.



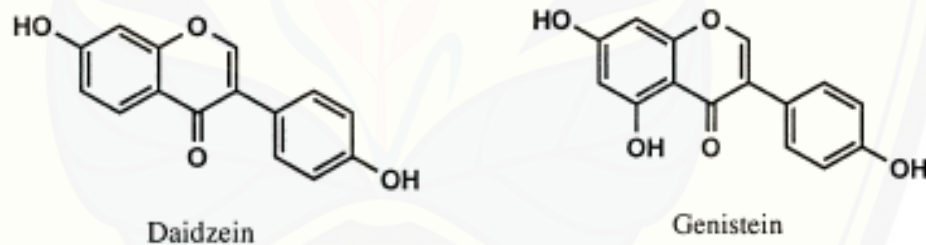
Gambar 2.3 Struktur kimia hormon estrogen (Ososki dan Kennelly, 2003).

Menurut Alagwu dan Nneli (2005) ovariektomi unilateral yang dilakukan pada tikus betina menyebabkan kadar estrogen dalam tubuh mengalami defisiensi. Defisiensi estrogen menyebabkan miometrium atropi dan inaktif, sehingga blastokis tidak mengalami implantasi (Ganong, 2003). Suprihatin (2008) menyatakan bahwa, senyawa isoflavon pada tepung tempe dosis 5 g bk/100 g bb/hari dapat meningkatkan jumlah sel telur yang diovulasikan sehingga jumlah korpus luteum meningkat. Peningkatan jumlah korpus luteum akan meningkatkan

produksi hormon progesteron untuk proliferasi sel endometrium sehingga mampu meningkatkan kelangsungan hidup embrio (Ganong, 2003). Selain itu Zin *et al.* (2013) menyatakan bahwa pemberian genistein pada tikus Sprague Dawley mampu meningkatkan berat uterus, penebalan dinding uterus dan berat ovarium

2.3 Kandungan Isoflavon pada Kedelai Hitam dan Pengaruhnya Terhadap Reproduksi Betina

Isoflavon merupakan senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang strukturnya mirip dengan estrogen (Setchell dan Cassidy, 1999). Komponen isoflavon pada kedelai hitam meliputi, genistein 56,9%, daidzein 40,5% dan glycitein 2,6% (Nakamura *et al.*, 2001). Kandungan genistein dan daidzein dalam kedelai hitam dapat berperan sebagai fitoestrogen. Komponen tersebut mempunyai sifat estrogenik yang dapat berikatan dengan reseptor estrogen sehingga mampu berperan seperti hormon estrogen (Mazur *et al.*, 1998). Struktur kimia daidzein dan genestein dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur Kimia Daidzein dan Genistein (Mazur *et al.*, 1998).

Struktur molekul isoflavon yang mirip dengan estrogen endogen, menyebabkan isoflavon dapat berikatan dengan reseptor estrogen (RE), khususnya reseptor estrogen β dalam sel tubuh (Kuiper *et al.*, 1998). Ada dua tipe reseptor dalam tubuh yaitu reseptor estrogen α dan reseptor estrogen β . Reseptor β memiliki afinitas pengikatan isoflavon yang lebih tinggi dibandingkan dengan reseptor α (Mishra *et al.*, 2011).

Kandungan isoflavon pada ekstrak campuran alfafa (*Medicago sativa*) dan sage (*Salvia officinalis*) dengan dosis 100 dan 200 mg/Kg/hari pada mencit dapat meningkatkan jumlah folikel ovarium dan korpus luteum (Adaay *et al.*,

2013). Penelitian yang dilakukan oleh Primiani (2015) menyatakan bahwa, pemberian parutan bengkuang yang mengandung isoflavon dengan dosis 0,6g/kg dan 0,9g/kg selama 24 hari menyebabkan proliferasi lapisan endometrium dan miometrium serta meningkatkan jumlah kelenjar uterus pada mencit premenopause. Selain itu berdasarkan penelitian Lestari (2017), pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dengan dosis 0,31 g/ml/hari selama 10 hari dapat meningkatkan jumlah implantasi pada mencit pasca ovariektomi unilateral 7 hari.

2.4 Hipotesis

Pemberian ekstrak tepung kedelai hitam pasca ovariektomi unilateral dapat meningkatkan jumlah korpus luteum dan jumlah fetus pada mencit (*Mus musculus*) strain Balb/C.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2017 sampai Februari 2018 di Laboratorium Zoologi dan Laboratorium Botani Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kandang mencit berukuran 34 x 25 x 12 cm (bak plastik dan penutup dari ram kawat besi), botol minum mencit, jarum sonde, lambung berujung tumpul (20 gauge, 5 cm), papan bedah, timbangan analitik, *sput injection* (terumo syringe 1 cc/ml) 0,45 x 13 mm, *sput injection* (terumo syringe 3 ml) 0,65 x 32 mm, eskavator, hecing set, silet, jarum sutura no.2 (*One Med*), *beaker glass* (1000 ml, 600 ml, 200 ml), gelas ukur 100 ml, botol *schott* (1000 ml, 500 ml), corong plastik kecil, spatula, cawan porselen 75 cc, *grinder*, saringan tepung 60 mesh, *lab stirrer electricity*, *rotary evaporator*, *waterbath*, baki *stainless steel*, oven (*incucell*), sendok, lop dan cup ekstrak kecil.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi mencit (*Mus musculus*) betina strain Balb/C umur 60 hari dengan berat 35 gram yang diperoleh dari Pusat Veteriner Farma Surabaya (Pusvetma), pakan pellet (BR1) produksi PT. Chareon Pokphand Indonesia Animal Feedmill Co. Ltd Jakarta, aquades, sekam padi, serbuk gergaji kayu, *ketamine* 10%, xyla, betadine (*Povidone Iodine*) 10%, cairan infus 0,9%, antibiotik, benang *silk* nomor 3 (*One med*), benang *catgut* nomor 3 (*One med*), Alkohol 70% (*Mediss*), kasa steril (*One med*), paracetamol, *tissue gloves*, masker, kedelai hitam, alkohol 70 %, kertas saring, kain saring, dan *tissue*.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) *Factorial Posttest Only Control Group Design* dengan 4 perlakuan dan 6 kali ulangan. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis perlakuan. Variabel terikatnya adalah jumlah korpus luteum dan jumlah fetus. Objek penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit betina (*Mus musculus L.*) strain Balb/C umur 60 hari dengan berat rata-rata 35 gram.

Berikut pembagian kelompok uji dari penelitian ini :

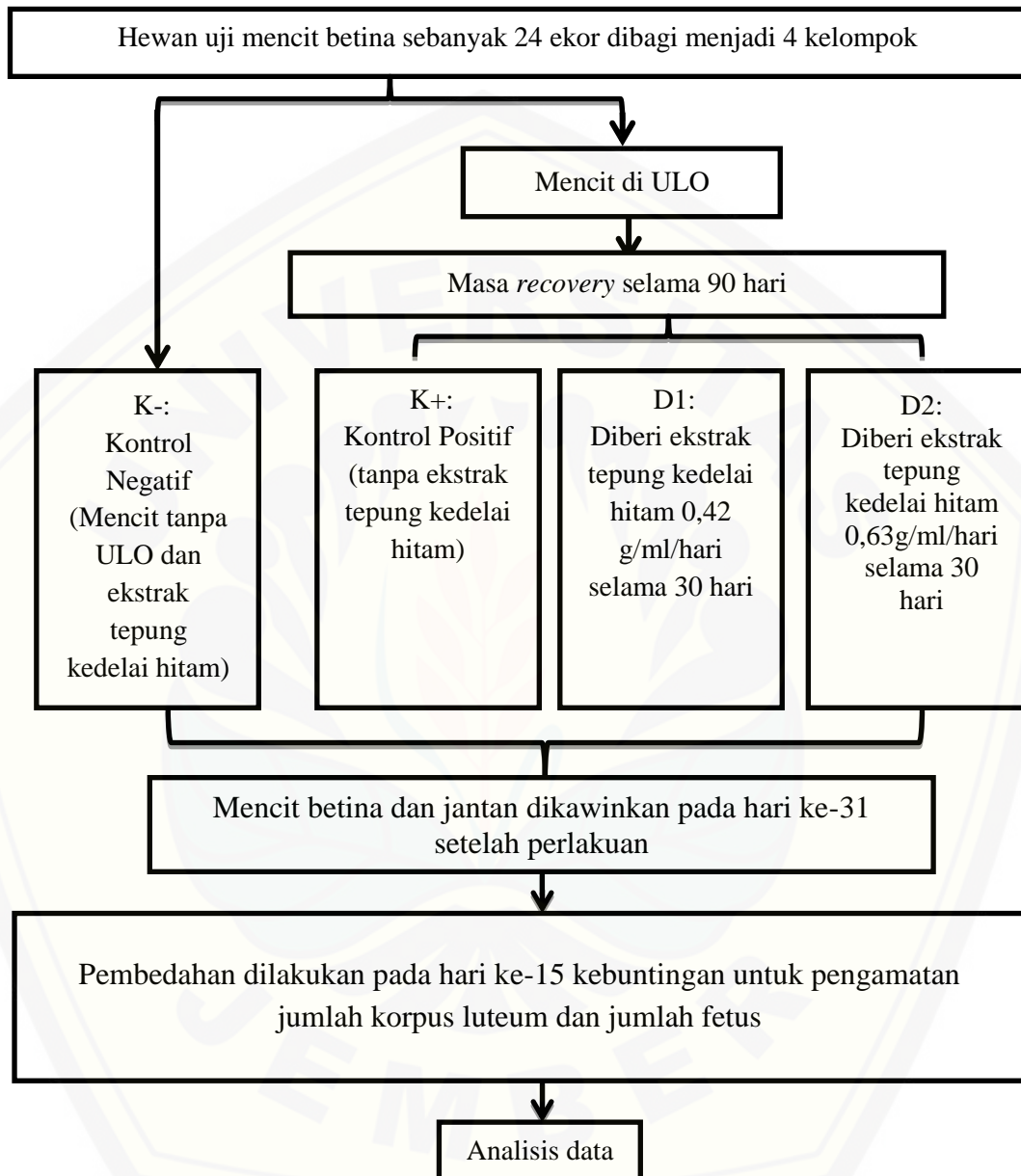
Kelompok 1: Kelompok kontrol negatif (mencit tanpa ovariektomi unilateral, tanpa pemberian ekstrak tepung kedelai hitam).

Kelompok 2: Kelompok kontrol positif (mencit ovariektomi unilateral, tanpa pemberian ekstrak tepung kedelai hitam).

Kelompok 3: Kelompok perlakuan mencit ovariektomi unilateral yang diberi ekstrak tepung kedelai hitam dengan dosis 0,42 gram/ml/hari selama 30 hari.

Kelompok 4: Kelompok perlakuan mencit ovariektomi unilateral yang diberi ekstrak tepung kedelai hitam dengan dosis 0,63 gram/ml/hari selama 30 hari.

Alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Alur kegiatan penelitian

3.4 Tahap Penelitian

3.4.1 Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan yaitu 24 ekor mencit betina umur 60 hari dengan berat 35 gram yang diperoleh dari Pusat Veteriner Farma Surabaya (Pusvetma) dipelihara dan diadaptasikan pada kandang terbuat dari plastik dan penutup ram kawat berukuran 34 cm x 25 cm x 12 cm beralas sekam padi dan serbuk gergaji kayu. Mencit diberi pakan berupa *pellet* (BR 1) produksi PT. Chareon Pokphand Indonesia Animal Feedmill Co. Ltd Jakarta dan diberi minum aquades secara *ad libitum*.

3.4.2 Preparasi Mencit Ovariektomi Unilateral

Prosedur ovariektomi unilateral yang dilakukan yaitu dengan mengambil satu ovarium mencit. Mencit umur 60 hari dengan berat rata-rata 35 gram dianasthesi dengan ketamil 10% dan xyla dengan perbandingan 1:1 sebanyak 0,05 ml per mencit secara intramuskular. Sebelum pembedahan, dilakukan sterilisasi pada papan bedah dan alat bedah dengan cara disemprot menggunakan alkohol 70%. Mencit diletakkan terlentang diatas papan operasi untuk dicukur rambut bagian medial perut dan dioleskan antiseptik *iodine* untuk mencegah kontaminasi mikrobial. Langkah berikutnya yaitu bagian medial perut diinsisi secara perlahan untuk membuka lapisan muskulus daerah abdomen (*M. obliquus abdominis eksternus* dan *M. oblikus abdominis internus*).

Selanjutnya diambil salah satu ovarium kemudian dijepit dengan klem arteri dan diikat bagian ujung oviduk dengan silk, ovarium dipotong secara perlahan dengan gunting *matzenbaum* dan klem arteri dilepas, organ reproduksi kembali direposisi. Langkah terakhir yang dilakukan yaitu penutupan bagian muskulus (*M. obliquus abdominis eksternus* dan *M. oblikus abdominis internus*) dengan cara dijahit menggunakan cat gut ukuran 3.0 dengan pola sederhana terputus. Pada bagian kulit paling luar dijahit pola terputus menggunakan benang *silk* ukuran 3.0, selanjutnya dilakukan desinfeksi menggunakan *iodine* pada daerah insisi, dan diinjeksi antibiotik sebanyak 0,05 ml (Strom *et al.*, 2012).

3.4.3 Pembuatan Ekstrak Tepung Kedelai Hitam.

Kedelai hitam ditumbuk kasar, ditimbang, kemudian dioven dalam suhu 40-45°C selama 2-3 hari, selanjutnya di *grinder* dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Tepung kedelai 200 gram dimaserasi dalam alkohol 70% 800 ml dengan perbandingan 1:4, kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 2 x 24 jam. Langkah berikutnya yaitu disaring untuk mendapatkan filtrat, dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* selama \pm 4-5 jam dengan suhu 90°C hingga diperoleh filtrat. Proses terakhir adalah diletakkan dalam cawan porselen dan dimasukkan pada *water bath* suhu 70°C selama \pm 8 jam untuk menghasilkan ekstrak tepung kedelai hitam, dengan hasil konstan yang diharapkan ekstrak tidak mengandung air dan dalam bentuk pasta (Hastuti, 2015).

3.4.4 Perlakuan Hewan Uji

Perlakuan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak tepung kedelai hitam yang diberikan secara oral menggunakan jarum sonde. Dosis perlakuan ditentukan berdasarkan penelitian (Ulfa, 2017), yaitu dosis harian mencit ovariektomi yang diberi ekstrak tepung kedelai hitam 0,42 gram/35 BB dalam bentuk pasta. Pemberian ekstrak tepung kedelai hitam dimulai pada hari ke-91 pasca ovariektomi secara oral (*gavage*) sesuai dosis 0,42 g/ml/hari dan 0,63 g/ml/hari selama 30 hari dengan cara mencampurkan bahan perlakuan pada 1 ml aquades. Penentuan dosis dapat dilihat pada (Lampiran A).

3.4.5 Perkawinan Mencit Jantan dan Betina

Sebelum dikawinan, dilakukan pengamatan apusan vagina untuk melihat fase estrus pada mencit betina. Perkawinan dilakukan pada hari ke-31 setelah perlakuan saat malam hari. Tiap kandang berisi 1 ekor mencit jantan dan 3 ekor mencit betina. Keberhasilan perkawinan dilihat melalui apusan vagina yang ditandai dengan adanya spermatozoa pada vagina dan dianggap sebagai kebuntingan hari ke-0 (Ochiogu *et al.*, 2009).

3.4.6 Pengamatan Kinerja Reproduksi

Data pengamatan kinerja reproduksi pada mencit ovariektomi unilateral pasca pemberian ekstrak tepung kedelai hitam diperoleh dengan melakukan pembedahan mencit pada hari ke-15 kebuntingan, pembedahan dilakukan pada bagian abdomen untuk pengambilan ovarium dan uterus. Kemudian dilakukan perhitungan jumlah korpus luteum dan jumlah fetus.

3.5 Parameter Penelitian

Parameter yang diamati pada penelitian ini meliputi jumlah korpus luteum dan jumlah fetus.

3.6 Analisis Data

Data berupa jumlah korpus luteum dan jumlah fetus yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan SPSS versi 22.0 uji nonparametrik *Kruskal-Walis* dengan taraf kepercayaan 95% atau nilai sig $\alpha = 0,05$. Selanjutnya, untuk mengetahui beda nyata antar kelompok dilakukan uji lanjutan nonparametrik *Wilcoxon* (Santoso, 2010).

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Pemberian ekstrak tepung kedelai hitam pada mencit (*Mus musculus*) pasca ovariectomi unilateral dapat meningkatkan rata-rata jumlah korpus luteum dan jumlah fetus pada dosis 0,42 g/ml/hari.

5.2 Saran

Penelitian ini merupakan langkah awal untuk mengkaji potensi ekstrak tepung kedelai hitam pada kinerja reproduksi mencit (*Mus musculus*) pasca ovariectomi unilateral. Untuk penelitian lebih lanjut perlu dilakukan pengukuran kadar hormon estrogen dan progesteron dalam darah.

DAFTAR PUSTAKA

- Adaay, M.H., S.S.A. Dujaily, dan F.K.Khazzal. 2013. Effect of Aqueous Extract of *Medicago Sativa* and *Salvia Officinalis* Mixture on Hormonal, Ovarian and Uterine Parameters in mature female mice. *J. Mater. Environ.* 4(4): 424-433.
- Alagwu, E.A., dan R.O. Nneli. 2005. Effect Of Ovariectomy on The Levels of Plasma Sex Hormones in Albino Rats. *Nigerian Journal Of Physiological Sciences.* 20(1-2): 90-94.
- Albertino, N., 2015. Pemberian Infusa Biji Adas (*Foeniculum vulgare* Mill) Terhadap Perkembangan Uterus Tikus Putih Produktif dan Premenopause. *Skripsi.* Bogor: Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Allred, C.D., K.F. Allred, Y.H. Ju, S.M. Virant, and W.G. Helferich. 2001. Soy Diets Containing Varying Amounts of Genistein Stimulate Growth of Estrogen-dependent (MCF-7) Tumors in a Dose-dependent Manner. *Cancer Research.* 61(13): 5045-5050.
- Baird, A.A.G., C.O'Neill, M.J. Sinosich, R.N. Porter, I.L Pike dan D.M. Saunders. 1986. Failure of Implantation in Human in Vitro Fertilization and Embryo Transfer Patients: The Effects of Altered Progesterone/Estrogen Ratios in Humans And Mice. *J. Fertility And Sterility.* 45(1): 69-74.
- Baker, D.E.J., Lindsey J.R dan Weisborth S.H. 1980. *The Laboratory Rat.* Vol II. Research Applications. London: Academic Press Inc.
- Cederroth, C.R dan S. Nef. 2009. Review Soy, phytoestrogens and metabolism: A review. *Journal Molecular and Cellular Endocrinology.* 304(2): 30-42.
- Constantinou, A. dan E. Huberman. 1995. Genistein as an Inducer of Tumor Cell Differentiation: Possible Mechanisms of Action. *Exp Biol Med (Maywood).* 208(1): 109-115.

- Fernandez, M.A.M., N.I. Wiratmini dan N.G.A.M, Ermayanti. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ekor Naga (*Rhaphidophora pinnata*, Schott) terhadap Perkembangan Uterus Mencit (*Mus musculus*) Betina yang Telah Diiovarektomi. *Jurnal Biologi*. 19(2): 74-79.
- Ganong, W.F. 2003. *Review of Medical Physiology*. International Edition. San Francisco: Mc Graw Hill Book.
- Gibori, G., J.S. Richards dan P.L. Keyes. 1979. Synergistic Effects of Prolactin and Estradiol in the Luteotropic Process in the Pregnant Rat: Regulation of Estradiol Receptor by Prolactin. *Biology Of Reproduction*. 21(2): 419-423.
- Groothuis, P.G., H.H.N.M. Dassen, A. Romano dan C. Punyadeera. 2007. Estrogen and The Endometrium: Lessons Learned From Gene Expression Profiling in Rodents And Human. *Human Reproduction Update*. 13(4): 405-417.
- Guyton, A.C. dan Hall, J.E. 2006. *Textbook of Medical Phisiology* bagian III. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hafez, E.S.E., Jainudeen MR., dan Rosnina Y. 2000. *Hormones, Growth Factors and Reproduction*. Di dalam: *Reproduction in Farm Animals*. Edke-3. Philadelphia (US): Lippincott Williams & Wilkins.
- Harper, M.J.K., B.T. Prostkoff dan R.J. Reeve. 1966. Implantation and Embryonic Development in the Ovariectomized Hamster. *J. Acta Endocr*. 52(2): 465-470.
- Harrison, R.M., Phillippi, P.P., Swan, K.F. dan Henson, M.C. 1999. Effect of Genistein on Steroid Hormone Production in the Pregnant Rhesus Monkey. *Experimental Biology and Medicine*. 222(1): 78-84.
- Hastuti, N.A. 2015. Efek Pemberian Ekstrak Kedelai (*Glycine max*) Terhadap Ekspresi Caspase-3 Mencit Galur C3H Model Karsinogenik Payudara. *Tesis*. Malang: Program Studi Magister Kebidanan. Universitas Brawijaya.

- Hillier, S.G. 1994. Current Concepts of the Roles of Follicle Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone in Folliculogenesis. *J. Human Reproduction*. 9(2): 188-191.
- Horse, K.R., Y. Zhou, O. Genbacev, A. Prakobphol, R. Foulk, M. McMaster dan S.J. Fisher. 2004. Trophoblast Differentiation During Embryo Implantation and Formation of the Maternal-Fetal Interface. *The Journal of Clinical Investigation*. 114(6): 744-754.
- Hu, S. J., G. Ren, J.L. Liu, Z.A. Zhao, Y.S. Yu, R.W. Su, X.H. Ma, H. Ni, W. Lei dan Z.M. Yang. 2008. MicroRNA Expression and Regulation in Mouse Uterus during Embryo Implantation. *Journal Of Biological Chemistry*. 283(34): 23473-23484.
- Jefferson, W.N. 2010. Adult Ovarian Function Can Be Affected by High Levels of Soy. *The Journal of Nutrition*. 140(12): 2322-2325.
- Keys, J.L dan G.J. King. 1995. Morphology of Pig Uterine Subepithelial Capillaries After Topical and Systemic Oestrogen Treatment. *Journal of Reproduction and Fertility*. 105(2): 287-294.
- Kuiper, G.G.J.M., J.G Lemmen, B. Carlsson, J.C. Corton, S.H Safe., P.T. Van der Saag, B. Van der Burg, dan J.A Gustfssn. 1998. Interaction of Estrogenic Chemical and Phytoestrogens with Estrogen Receptor β . *Endocrinology*. 139(10): 4252-4263.
- Kumar, P dan Magon, N. 2012. Hormones in Pregnancy. *Nigerian Medical Journal*. 53(4): 179-183.
- Ladesma, L.M., D.A. Ramirez, E. Vierya, A. Trujilo, R. Chavira, M. Cardenas dan R. Dominguez. 2011. Effect of Acute Unilateral Ovariectomy to Pre-Pubertal Rats on Steroid Hormones Secretion and Compensatory Ovarian Responses. *Journal Reproductive Biology and Endocrinology*. 9(41): 1-8.
- Lestari, M.D. 2017. Efek Pemberian Ekstrak Tepung Kedelai Hitam (*Glycine soja*) Terhadap Implantasi Mencit (*Mus musculus*) Strain Balb/C Pasca Ovariektomi Unilateral. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.

- Ma, W.G., H. Song., A.K. Das., B.C. Paria dan S.K. Day. 2013. Estrogen is a Critical Determinant that Specifies the Duration of the Window of Uterine Receptivity for Implantation. *Journal Reproductioun*. 11(5): 2963-2968.
- Mazur, W.M., J.A. Duke, K., dan S. Rasku. 1998. Isoflavonoids and Lignans in Legumes: Nutritional and Healt Aspects in Humans. *J. Nutr. Biochem*. 9(4): 193–200.
- Mishra, N., V.N. Mishra dan Devanshii. 2011. Natural Phytoestrogens in Health and Disease. *JIACM*. 12(3): 205-211.
- Morán, C., L. Morales, U. Quiróz dan R. Domínguez. 2000. Effects of Unilateral or Bilateral Superior Ovarian Nerve Section in Infantile Rats on Follicular Growth. *Journal of Endocrinology*. 166(1): 205–211.
- Mourik, M.S.M.V., N.S. Macklon dan C.J. Heijnen. 2009. Embryonic Implantation: cytokines, adhesion molecules, and immune cells in Establishing an Implantation Environment. *Journal of Leukocyte Biology*. 85(1): 4-19
- Murkies, A.L., G. Wilcox dan S.R. Davis. 1998. Clinical Riview, Phytoestrogens. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 83(2): 297-303.
- Nakamura, Y., A.Kaihara, K.Yoshii, Y.Tsumura, S.Ishimitsu dan Y. Tonogai. 2001. Content and Composition of Isoflavonoids in Mature or Immature Beans and Bean Sprouts Consumed in Japan. *Journal of Health Science*. 47(4): 394-406.
- Nallasamy, S., Q. Li, M.K. Bagchiz dan I.C. Bagchi. 2012. Msx Homeobox Genes Critically Regulate Embryo Implantation by Controlling Paracrine Signaling between Uterine Stroma and Epithelium. *Plos Genetics*. 8(2): 1-4.
- Ochiogu, I. Shedrack, Oguejiofor, C. Fidelis, Nwagbo, dan A. Nnaemeka. 2009. Males' Non-Enhancement of Bruce And Whitten Effects in Female Albino Mice-*Mus musculus*. *Animal Research Internationa*. 6(3): 1077 -1081.

- Ososki, Andreana L dan E. J. Kennelly. 2003. *Riview Article* Phytoestrogens: a Review of the Present Stateof Research. *Phytother.* 17(8): 845-69.
- Partodihardjo, S. 1980. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Fakultas Kedokteran Veteriner, Jurusan Reproduksi IPB. Jakarta: Penerbit Mutiara.
- Pramono, R. 2006. Performans Organ Reproduksi Mencit (*Mus musculus*) yang Diberi Pakan Mengandung Protein Sel Tunggal. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Primiani, C.N. 2015. The Phytoestrogenic Potential of Yam Bean (*Pachyrhizus erosus*) on Ovarian and Uterine Tissue Structure of Premenopausal Mice. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry.* 4(1): 4-9.
- Ruggiero, R.J., Pharm D. dan F.E. Likis. 2002. Estrogen: Physiology, Pharmacology, And Formulations For Replacement Therapy. *Journal of Midwifery & Women's Health* . 47(3): 130-138.
- Safrida. 2008. Perubahan Kadar Hormon Estrogen pada Tikus yang diberi Tepung Kedelai dan Tepung Tempe. *Thesis*. Bogor: Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Santell, R.C., Y.C. Chang, M.G. Nair dan W.G. Helferich. 1997. Dietary Genestein Exert Estrogenic Effects upon the Uterus, Mammary Gland, and the Hypothalamic/Pituitary Axis in Rat. *J. Nutr.* 127(2): 263-269.
- Santoso, S. 2010. *Statistik Nonparametrik*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Satyaningtjas, A.S., H. Maheshwati, P. Achmadi, I. Bustaman, B. Kiranadi, Julianto dan M.L. Kurnia. 2016. Pemberian Ekstrak Etanol Purwoceng pada Masa Pasca Plasentasi Meningkatkan Kinerja Reproduksi Tikus Bunting. *Jurnal Veteriner.* 17(1): 51-56.
- Selvaraj, M., M.A. Zakroczymski, A. Naaz, M. Mukai, Y.H. Ju, D.R. Doerge, J.A. Katzenellenbogen, W.G. Helferich dan P.S. Cooke. 2004.

Estrogenicity of the Isoflavone Metabolite Equol on Reproductive and Non-Reproductive Organs in Mice. *Biology Of Reproduction*. 71(3): 966-972.

Setchell, K.D.R dan A. Cassidy. 1999. Dietary Isoflavones: Biological Effects and Relevance to Human Health. *J. Nutr.* 129(3): 758S–767S.

Sherwood, L. 2010. *Fisiologi Manusia: Dari Sel ke Sistem Edisi 6*. Jakarta: EGC.

Smith, J.B. dan S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

Strom, J.O., A. Theodorsson, E. Ingberg, I.M. Isaksson dan E. Theodorsson. 2012. Ovariectomy and 17 β -estradiol Replacement in Rats and Mice: A Visual Demonstration. *Journal of Visualized Experiments*. 64: 1-4.

Suprihatin. 2008. Optimalisasi Kinerja Reproduksi Tikus Betina Setelah Pemberian Tepung Kedelai dan Tepung Tempe pada Usia Prapubertas. *Thesis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Taya, K dan G.S Greenwald. 1981. In Vivo and in Vitro Ovarian Steroidogenesis in the Pregnant Rat. *J. Biology of Reproduction*. 25: 683-691.

Toelihere, M.R. 1981. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Bandung: Angkasa.

Turner, C.D. dan Bagnara, J.T. 1988. *Endokrinologi Umum*. Surabaya: Airlangga University Press.

Ulfa, Y.M. 2017. Efek Ekstrak Tepung Kedelai Hitam (*Glycine Soja*) Terhadap Struktur Histologi Uterus Mencit (*Mus Musculus*) Strain Swiss Webster Ovariectomi Unilateral. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.

- Wang, C. dan M.S. Kurzer. 1997. Phytoestrogen Concentration Determines Effects on DNA Synthesis in Human Breast Cancer Cells. *Nutrition and Cancer* 28(3): 236-247.
- Wang, H. dan S.K. Dey. 2006. Roadmap to Embryo Implantation: Clues from Mouse Models. *Review*. Departments of Pediatrics, Cell & Developmental Biology, and Pharmacology, Division of Reproductive and Developmental Biology, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, Tennessee, USA.
- Whitten, P.L dan H.B. Patisaul. 2001. Cross-Species and Interassay Comparisons of Phytoestrogen Action. *Environmental Health Perspectives*. 109(1): 5-20.
- Wiebold, J.L. dan W.C. Becker. 1987. Inequality in Function of the Right and Left Ovaries and Uterine Horns of the Mouse. *J. Reprod Fert.* 79(1): 125-134.
- Xu, B. J. and Chang, S. K. S. 2007. A Comparative Study on Phenolic Profile and Antioxidant of Legumes as Affected by Extraction Solvents. *J. Food Sci.* 72(2): 159-166.
- Zin, S.T.Md., S.T. Omar, N.L.A. Khan, N.I. Musameh, S. Das, N.M. Kassim. 2013. Effects of The Phytoestrogen Genistein on the Development of the Reproductive System of Sprague Dawley Rats. *Journal Clinics*. 68(2): 253-262.

LAMPIRAN

A. Penentuan Dosis Ekstrak Tepung Kedelai Hitam

- Penentuan dosis dihitung berdasarkan penelitian safrida (2008), yaitu 10 gram berat kering (BK) / 100 gram berat badan (BB) tikus.
- Konversi pasta dari berat kering tempe kedelai.

Berat kering tempe	:	Berat Pasta
2034,8 gram	:	175,6 gram
1 gram	:	0,086 gram

10 gram BK/100 gram BB tikus

10 gram BK/100 gram BB = 0,1 gram BK/ gram tikus

- Rata-rata BB tikus = 200 gram
 $0,1 \times 200 = 20$ gram BK/200 gram BB mencit
- Konvers 200 gram tikus \rightarrow 20 gram BB mencit = 0,14.
 $20 \times 0,14 = 2,8$ gram
- Dikonversi ke pasta.
 $2,8 \times 0,086 = 0,24$ gram pasta/ 20 gram BB mencit
 $0,24/20 = 0,12$ gram pasta/ gram BB mencit
- Rata-rata BB mencit perlakuan = 35 gram
 $0,12 \times 35 = 0,42$ gram (Dosis 1), setengah lebih tinggi = 0,63 gram (Dosis 2)

B. Hasil Analisis Uji *Kruskal-Wallis* Pengaruh Ekstrak tepung Kedelai Hitam terhadap Jumlah Korpus Luteum dan Jumlah Fetus Mencit Pasca Ovariektomi Unilateral

a. Uji *Kruskal-Wallis* Jumlah Korpus Luteum

Descriptive Statistics

Parameter	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Korpus Luteum	24	6,92	3,120	0	13
Perlakuan	24	2,50	1,142	1	4

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank
CL Kontrol Positif	6	3.50
Kontrol Negatif	6	18.92
Dosis 1	6	13.92
Dosis 2	6	13.67
Total	24	3.50

Test Statistics^{a,b}

	CL
Chi-Square	15.311
df	3
Asymp. Sig.	.002

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Perlakuan

b. Uji *Kruskal-Wallis* Jumlah Fetus**Descriptive Statistics**

Parameter	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Fetus	24	3,88	3,882	0	12
Perlakuan	24	2,50	1,142	1	4

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
FE	Kontrol Positif	6	5.50
	Kontrol Negatif	6	17.33
	Dosis 1	6	16.25
	Dosis 2	6	10.92
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	FE
Chi-Square	11.578
df	3
Asymp. Sig.	.009

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Perlakuan

C. Hasil Analisis Uji Wilcoxon Pengaruh Ekstrak tepung Kedelai Hitam terhadap Jumlah Korpus Luteum dan Jumlah Fetus Mencit Pasca Ovariectomi Unilateral

a. Uji Wilcoxon Jumlah Korpus Luteum

Test Statistics^a

	Negatif - Positif	Dosis1 - Positif	Dosis2 - Positif	Dosis1 - Negatif	Dosis2 - Negatif
Z	-2.003 ^b	-1.802 ^b	-2.032 ^b	-1.160 ^c	-1.625 ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	.027	.027	.024	.246	.104

- a. Wilcoxon Signed Ranks Test
 b. Based on negative ranks.
 c. Based on positive ranks.

b. Uji Wilcoxon Jumlah Fetus

Test Statistics^a

	Negatif - Positif	Dosis1 - Positif	Dosis2 - Positif	Dosis1 - Negatif	Dosis2 - Negatif
Z	-2.023 ^b	-2.226 ^b	-1.604 ^b	-1.135 ^c	-1.483 ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043	.026	.109	.893	.138

- a. Wilcoxon Signed Ranks Test
 b. Based on negative ranks.
 c. Based on positive ranks.