

UJI AKTIVITAS FARMAKOLOGI PADA BUNGA KACAPIRING (*Gardenia jasminoides* L) PADA MENCIT (*Mus musculus* L) BETINA GALUR DDY YANG TERPAPAR ASAP ROKOK TERHADAP MORFOMETRI OVARIUM MELALUI METODE BIOTEKNOLOGI FERMENTASI KOMBUCHA

Sylvia Puspita¹, Firman Rezaldi^{2*}, Achmad Vindo Galaresa³, Priyoto⁴, Rina Octavia⁵

¹Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bhakti Husada Mulia

^{2*}Alumni Magister Bioteknologi, Sekolah Pasca Sarjana (SPS), Universitas Padjajaran

^{3,4}Program Studi Keperawatan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bhakti Husada Mulia

⁵Program Studi S1 Kebidanan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Salsabila

*Korespondensi Email: firmanrezaldi417@gmail.com

ABSTRACT

Kombucha made from gardenia flowers is one of the probiotic drinks that has been proven to have pharmacological activity *in vitro* as an antibacterial for *Staphylococcus aureus* and *Eschechia coli*. This study aims to examine the pharmacological activity at each sugar concentration of 20%, 30%, and 40% in inhibiting the growth of both test bacteria. This study was experimental in nature, namely by preparing kombucha from gardenia flowers at a sugar concentration of 20%, 30%, and 40%, and providing a positive control in the form of black tea-based kombucha, and aquadest as a negative control. Disc diffusion is a method for testing the pharmacological activity of kombucha in the gardenia flower and its two comparators for the growth of the two test bacteria. The data analysis used in this study was in the form of a one way ANOVA with a confidence level of 95% and further tests were carried out in the form of post hoc analysis. The results of this study have proven that kombucha cassava flowers at a sugar concentration of 40% are significantly different from a sugar concentration of 20% and 30% in inhibiting the growth of both test bacteria, so it can be concluded that each sugar concentration is positively correlated in inhibiting the growth of both bacteria. test and a sugar concentration of 40% was the best concentration in inhibiting the growth of both test bacteria based on their ability or pharmacological activity *in vitro*.

Keywords: Pharmacology, Kombucha, Gardenia Flowers, Biotechnology, Fermentation

ABSTRAK

Kombucha yang berbahan dasar bunga kacapiring merupakan salah satu minuman probiotik yang terbukti memiliki aktivitas farmakologi secara *in vitro* sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* maupun *Eschechia coli*. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas farmakologi pada masing-masing konsentrasi gula sebesar 20%, 30%, dan 40% dalam menghambat kedua pertumbuhan bakteri uji. Penelitian ini bersifat eksperimental yaitu dengan cara membuat sediaan kombucha bunga kacapiring pada konsentrasi gula sebesar 20%, 30%, dan 40%, serta menyediakan kontrol positif berupa kombucha yang berbahan dasar teh hitam, dan juga akuades sebagai kontrol negatif. Difusi cakram merupakan salah satu metode dalam pengujian aktivitas farmakologi pada kombucha bunga kacapiring beserta kedua pembanding nya terhadap kedua pertumbuhan bakteri uji. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini berupa ANOVA satu jalur dengan taraf kepercayaan sebesar 95% dan dilakukan uji lanjut berupa analisis pos hoc. Hasil penelitian ini telah membuktikan bahwa kombucha bunga kacapiring pada konsentrasi gula sebesar 40% berbeda nyata dengan konsentrasi gula sebesar 20% dan 30% dalam menghambat kedua pertumbuhan bakteri uji, sehingga dapat disimpulkan bahwa masing-masing konsentrasi gula berkolerasi secara positif dalam menghambat kedua pertumbuhan bakteri uji dan konsentrasi gula sebesar 40% merupakan konsentrasi yang terbaik dalam menghambat kedua pertumbuhan bakteri uji berdasarkan kemampuan atau aktivitas farmakologinya secara *in vitro*.

Kata Kunci: Farmakologi, Kombucha, Bunga Kacapiring, Bioteknologi, Fermentasi

1. PENDAHULUAN

Salah satu komponen penting dalam bentuk organ tubuh vital dalam menentukan kesuburan guna mempertahankan keturunannya pada wanita terdapat pada bagian organ reproduksi yaitu ovarium. Organ reproduksi terprioritas bagi wanita dalam menghasilkan ovum, pertumbuhan yang disertai perkembangan folikel, pematangan oosit, serta penghasil hormon reproduksi terdapat pada ovarium (Nani, 2018). Fungsi kerja ovarium secara optimal merupakan mayoritas dalam penentuan terhadap indikator kesuburan bagi kaum hawa. Ovarium yang berada pada kondisi baik atau terkendali secara idealnya berpotensi dalam memproduksi oosit yang berkualitas atau kompeten untuk melakukan fertilisasi maupun berkembang secara berkesinambungan.

Ovarium dapat terhambat fungsi kerjanya secara optimal terdapat pada paparan asap rokok yang mengandung bagian-bagian penting serta meliputi nikotin, tar, karbon monoksida, gas anorganik berupa ammonia dan hidrogen sianida, logam berat yang meliputi timbal, kadmium, selenium, merkuri, dan kromonium, nitrosamine, fenol, karbonil formaldehida, dan hidrokarbon aromatik. Berbagai kandungan asap rokok yang terpapar dapat menyebabkan terjadinya efek negatif terhadap kadar hormon yang terkandung pada organ reproduksi kaum wanita (Prieto et al., 2021). Mayoritas kaum hawa yang terpapar asap rokok memiliki potensi sebesar 30% yang dapat dipastikan mampu menurunkan angka kehamilan (Ambarwati, 2019). Pernyataan tersebut telah terungkap melalui hasil penelitian Halimah et al., (2018) yang menyatakan bahwa kaum wanita yang terpapar asap rokok dengan prosentase sebesar 73,3% berpotensi dalam menurunkan kesuburan. Hal tersebut disebabkan karena asap rokok yang terpapar memiliki kemampuan dalam meningkatkan radikal bebas terutama pada ovarium sehingga menginduksi terjadinya stress oksidatif pada ovarium terutama bagian sel-selnya. Paparan asap rokok yang menjadi salah satu pemicunya radikal bebas dapat diatasi melalui pemberian nutrisi atau zat gizi yang tepat dalam rangka memproduksi oosit pada kualitas yang baik, sehingga sel sel yang terdapat didalam ovarium mampu memberikan embrio yang survival (Antina & Selvia, 2015 ; Ajiningrum et al., 2020).

Salah satu zat gizi yang bersifat sebagai sumber antioksidan dalam menangkal radikal bebas yang dapat mengancam sel-sel ovarium dalam mempertahankan kesuburan bagi kaum hawa adalah kombucha yang berbahan dasar bunga kacapiring. Kombucha merupakan salah satu minuman probiotik hasil fermentasi atau produk bioteknologi (Fadhilah et al., 2021) konvensional yang memiliki aktivitas sebagai sumber antioksidan (Rezaldi et al., 2021) dan sumber antibakteri baik bakteri gram positif maupun negatif (Rezaldi et al., 2021). Fitokimia yang terkandung pada bunga kacapiring meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, dan juga tanin yang telah diklaim sebagai sumber antibakteri (Wahyuni dan Karim, 2020) dan juga sumber antioksidan. Pada negara Indonesia tanaman kacapiring telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional dalam mengatasi demam, sesak nafas, hipertensi, serta sariawan (Farida et al., 2018), sehingga penulis tertarik untuk melakukan penelitian pada kombucha bunga kacapiring pada morfometri ovarium mencit (*Mus musculus L*) betina galur DDY yang terpapar asap rokok.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah totalitas eksperimental melalui Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang meliputi 4 perlakuan dosis larutan fermentasi kombucha bunga telang yang bertingkat dan 6 kali pengulangan dalam bentuk individu mencit betina galur DDY. Perlakuan yang diberikan pada kombucha bunga kacapiring dengan dosis 0 gram/kg BB berupa aquades sebagai kontrol negatif sebagai T0 dan kelompok perlakuan terdiri dari T1 20% (gram/kg BB) untuk kelompok T2 sebesar 30% (gram/kg BB), untuk kelompok T3 sebesar 40% (gram/kg BB). (Eny, 2020) dan pemberian kombucha bunga kacapiring dilakukan selama 20 hari yang dimulai pada hari ke 21 hingga 40 sebelum dikawinkan. Pengamatan morfometri ovarium dilakukan secara idealnya yaitu pada hari 18 usia kebuntingan.

2.1 Persiapan Bunga Kacapiring

Bunga kacapiring yang diambil di Desa Ciwedus, Kampung Pekuncen, Kota Cilegon diambil sebanyak 500 gram dan dicuci dalam kondisi air mengalir sampai pada kondisi kering dan siap untuk difermentasi oleh scoby.

2.2 Fermentasi Kombucha Bunga Kacapiring

Langkah awal dalam fermentasi kombucha bunga kacapiring adalah menyiapkan bunga kaca piring sebanyak 500 gram dalam 1 liter dan juga gula sebanyak 800 gram untuk satu liter. Langkah kedua dalam fermentasi kombucha bunga kaca piring yaitu menyiapkan alat-alat seperti toples kaca yang berukuran 1,5 liter, dan 2,4 mL sebanyak 3 buah. Langkah ketiga dalam fermentasi kombucha bunga kacapiring yaitu menyalakan kompor dan menuangkan air yang bebas dari kaporit berupa akuades sebanyak 700 mL ke dalam panci steanles selama 5 menit dan hingga mendidih sebelum dituangkan baby scoby cair sebanyak 250 mL. Langkah keempat dalam fermentasi kombucha bunga kacapiring yaitu menuangkan rebusan kacapiring ke dalam toples kaca dan menunggu sampai dalam kondisi dingin sekitar 30 menit. Langkah kelima dalam fermentasi kombucha bunga kacapiring yaitu menambahkan gula sebanyak 800 gram dan mengaduk nya sampai larut dan menutupnya dengan kain hitam serta mengikatnya dengan kuat menggunakan karet gelang maupun tali. Langkah keenam dalam fermentasi kombucha bunga kacapiring yaitu menyiapkan toples kaca berukuran 2,4 mL sebanyak 3 buah untuk ditambahkan konsentrasi gula sebesar 20%, 30%, dan 40% dari seduhan kacapiring yang telah ditambahkan Scoby. Langkah ketujuh dalam fermentasi kombucha bunga kacapiring yaitu menyiapkan Scoby dengan ketebalan 12 cm untuk dipotong potong masing masing sebanyak 3 cm. Langkah ke delapan dalam fermentasi kombucha bunga kacapiring yaitu memberikan masing masing

scoby pada keempat toples yang sudah disediakan baik untuk 1 liter dan 2,4 mL sebanyak 3 buah yang meliputi konsentrasi gula sebesar 20%, 30%, dan 40%. Langkah kesembilan dalam fermentasi kombucha bunga kacapiring yaitu memberikan masing-masing label pada kombucha bunga kacapiring dengan masing-masing konsentrasi gula dan menyimpan pada arak kultur dengan suhu tinggi atau kamar selama 12 hingga 14 hari (Rezaldi et al., 2021)

Langkah kesepuluh dalam fermentasi kombucha bunga kacapiring yaitu mengamati hasil fermentasi kombucha kacapiring yang telah dilakukan selama 12 sampai 14 hari atau panen. Ciri-ciri terjadinya panen pada fermentasi kombucha yang telah dilakukan meliputi aroma cenderung asam segar, pH cenderung asam, tidak adanya kontaminasi berupa hifa atau jamur pada scoby, tidak berbau tengik yang dapat menandakan adanya kontaminasi berupa bakteri, dan tidak menghasilkan rasa yang masih manis, sehingga diperlukan untuk memperpanjang waktu fermentasi.

2.4 Memaparkan asap rokok dan menginjeksi secara oral pada mencit dengan kombucha bunga kacapiring

Pemaparan mencit dengan menggunakan asap rokok jarum super dilakukan pasca 2 minggu adaptasi. Pemaparan asap rokok pada mencit dilakukan setiap hari dari pukul 09.00 WIB, 11.00 WIB, 14.00 WIB, dan 16.00 WIB selama 20 hari dalam 1 batang setiap kandang nya. Pemberian kombucha bunga kacapiring pada mencit diawali pada hari ke 21 hingga 40 waktu pagi hari secara oral pukul 09.00 WIB dengan alat sonde lambung sesuai dosis perlakuan nya. Volume pada setiap pemberian kombucha bunga kacapiring harus dihitung dengan menyesuaikan bobot hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini.

2.5 Mengawinkan hewan uji

Pengawinan hewan uji dilakukan pada hari terakhir pemberian kombucha bunga kacapiring yaitu dengan cara mengawinkan secara natural pada penempatan 4 individu mencit betina ke dalam satu kandang yang berisi 1 individu mencit jantan. Menempatkan mencit betina dan jantan dilakukan pada pukul 17.00 WIB selama kurang lebih satu minggu. Hari pertama kebuntingan koitus (D1) secara idealnya ditandai dengan adanya kondisi vagina yang mengalami penyumbatan berwarna putih dan dapat terlihat pada 1 hari nya. Memelihara mencit yang telah berhasil dalam kondisi koitus dan memisahkan nya pada mencit yang belum mengalami koitus. Mencit yang belum mengalami penyumbatan pada bagian vaginanya tetap disatukandangkan dengan jantan hingga mengalami koitus.

2.6 Pengamatan data morfometri ovarium

Pengamatan data mengenai morfometri ovarium dilakukan pada hari ke 18 kebuntingan pada mencit melalui metode euthanasia dislokasi (AVMA, 2013). Bagian ovarium yang telah dikumpulkan harus terpisah dari lemak yang masih menempel serta meletakkan pada cawan petri yang steril dan terdapat pada laboratorium. Pengamatan morfometri ovarium dilakukan dengan cara mengukur panjang dan lebar menggunakan alat berupa jangka sorong analitik. Pengukuran bobot menggunakan timbangan analitik, dan korpus luteum pada masing-masing mencit dilakukan dengan menggunakan kaca pembesar maupun mikroskop cahaya.

2.7 Analisis data

Data hasil penelitian mengenai morfometri ovarium yang telah diperoleh selama eksperimental dianalisis menggunakan ANOVA pada taraf kepercayaan 1%. Data hasil penelitian yang mengalami perbedaan secara nyata melalui ANOVA dilakukan uji lanjut melalui analisis DMRT (Duncan Multiple Range Test) dengan taraf 1%. Data hasil penelitian ini diolah menggunakan program SPSS Versi 27.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Panjang ovarium mencit betina (*Mus musculus L*)

Pengukuran mengenai panjang dan lebar mencit pasca berikan atau dipaparkan asap rokok maupun kombucha bunga kacapiring terdapat pada tabel 3.1 dibawah ini.

Tabel 1. Rata-rata panjang dan lebar ovarium mencit betina

Perlakuan	N	Rata-rata panjang ovarium (cm)	Rata-rata lebar ovarium (cm)
T0	5	0,34	0,37
T1	5	0,35	0,34
T2	5	0,52	0,42
T3	5	0,55	0,45

Keterangan :

- T0 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan air putih
- T1 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 20%
- T2 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 30%
- T3 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 40%
- N : Jumlah mencit pada setiap perlakuan

Tabel 1 yang tercantum diatas terbukti bahwa rata-rata 18anjang ovarium terhadap indukan mencit yang telah diberikan pengobatan berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pasca dipaparkan asap rokok terhadap kelompok T0 atau 18anjang berupa air putih adalah 0,34 cm, T1 berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 20% adalah sebesar 0,35 cm, kelompok T2 berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 30% adalah sebesar 0,52 cm, dan kelompok T3 pada berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 40% adalah sebesar 0,55 cm. Rata-rata lebar ovarium berdasarkan tabel 1 diatas telah terbukti pada indukan mencit yang sudah diberikan pengobatan dalam bentuk larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pasca dipaparkan asap rokok pada kelompok T0 atau 18anjang berupa air putih adalah sebesar 0,37 cm. Kelompok perlakuan T1 berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 20% adalah sebesar 0,34 cm. Kelompok perlakuan T2 berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 30% adalah sebesar 0,42 cm. Kelompok perlakuan T3 berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring dosis 40% adalah sebesar 0,45 cm. Hasil penelitian ini telah membuktikan bahwa pemberian larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring berpotensi dalam meningkatkan rata-rata 18anjang maupun lebar ovarium bersamaan dengan peningkatan dosis larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring yang telah diberikan. Hasil penelitian mengenai 18anjang dan lebar ovarium yang telah diolah melalui 18anjang18c berupa ANOVA tercantum pada tabel 2 dibawah ini.

Tabel 2. Hasil uji ANOVA mengenai 18anjang dan lebar ovarium mencit betina

Parameter	F Hitung	Signifikasi	$\alpha=1\%$
Panjang ovarium	12.67	0.006	0.02
Lebar ovarium	8.72	0.004	0.01

Sumber : data primer SPSS 27 (2021).

Tabel 2 yang terlampir diatas mengenai hasil ANOVA pada rata-rata panjang ovarium membuktikan nilai signifikansi yang diperoleh sebesar 0,006 dan terbukti lebih kecil dibandingkan nilai $\alpha=1\%$ yaitu $p < 0,01$. Hasil penelitian ini telah terbukti bahwa pemanfaatan larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pasca dipaparkan asap rokok terhadap mencit berpengaruh nyata pada panjang ovarium jika dibandingkan dengan kelompok pembanding atau kontrol. Analisis ANOVA pada lebar ovarium pun telah membuktikan nilai signifikasinya sebesar 0,004 dan terbukti lebih kecil jika dibandingkan dengan nilai $\alpha=1\%$. Hasil penelitian ini telah menunjukkan bahwa pengobatan melalui pemberian larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring terhadap mencit betina galur DDY yang telah dipaparkan asap rokok membuktikan pengaruh secara nyata pada lebar ovarium jika dibandingkan dengan lebar ovarium pada kelompok kontrol, sehingga pada pengukuran panjang maupun lebar pada ovarium mencit betina dapat dilakukan tahap pengujian statistik selanjutnya yaitu analisis DMRT. Hasil uji lanjut berupa analisis DMRT dapat terlihat pada tabel 3 dibawah ini.

Tabel 3. Hasil uji lanjut DMRT mengenai rata-rata panjang dan lebar ovarium mencit betina galur DDY

Perlakuan	N	Rata-rata panjang (cm)	Rata-rata lebar (cm)
T0	5	0.26 ^a	0.23 ^a
T1	5	0.25 ^a	0.26 ^a
T2	5	0.47 ^b	0.37 ^b
T3	5	0.52 ^b	0.36 ^b

Notasi (a,b, dan c) membuktikan terdapat perbedaan nyata terhadap uji DMRT $\alpha=1\%$ (Sumber data primer SPSS 27, 2021)Keterangan :

- T0 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan air putih

T1	: Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 20%
T2	: Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 30%
T3	: Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 40%
N	: Jumlah mencit pada setiap perlakuan

Tabel 3 yang tercantum diatas mengenai hasil uji lanjut DMRT telah terbukti bahwa pemberian larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 20% g/kg tidak berbeda nyata pada panjang maupun lebar ovarium mencit betina yang terpapar asap rokok dengan $\alpha=1\%$. Pemberian larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 20% g/kg berbeda nyata dengan kelompok perlakuan lainnya yaitu larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring yaitu pada dosis 30% g/kg dan 40% g/kg dengan $\alpha=1\%$. Pemberian pengobatan berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 30% g/kg dan 40% g/kg berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan kontrol dengan $\alpha=1\%$. Hasil penelitian ini telah terbukti bahwa pemanfaatan kombucha bunga kacapiring yang telah efektif sebagai pengobatan dalam meningkatkan panjang maupun lebar ovarium mencit betina galur DDY adalah dosis 40% g/kg.

Panjang ovarium merupakan jarak yang terletak diantara ujung atas hingga ujung bawah ovarium, sedangkan lebar ovarium merupakan jarak yang terletak diantara sebelah kiri hingga ujung kanan ovarium yang dihitung berdasarkan jangka sorong analitik. Hasil uji statistik ANOVA dan DMRT dengan $\alpha=1\%$ telah terbukti bahwa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring dengan dosis 40% g/kg merupakan perlakuan yang terbaik atau efektif dalam meningkatkan (memperbaiki) terhadap ukuran panjang maupun lebar ovarium terhadap mencit betina galur DDY setelah dipaparkan asap rokok. Larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 20% g/kg merupakan perlakuan yang terendah dalam meningkatkan atau memperbaiki ukuran panjang maupun lebar ovarium mencit betina galur DDY. Hal tersebut terbukti dalam hasil penelitian ini pada perlakuan kelompok T1 atau dosis 20% g/kg larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring yang diberikan tergolong rendah sehingga belum terlihat reaksi farmakodinamik nya dengan jelas.

Pemaparan asap rokok mengandung zat yang bersifat toksik sehingga mengakibatkan terjadinya penyusutan terhadap panjang maupun lebar ovarium mencit betina galur DDY. Adanya penurunan mengenai ukuran panjang dan lebar ovarium dapat terjadi karena paparan asap rokok mempunyai efek ovarotoksik dan antiestrogenik (Budani *et al.*, 2018). Adanya pengaruh ovarotoksik terhadap paparan asap rokok terjadi melalui mekanisme stress oksidatif sehingga berpotensi dalam merusak terhadap susunan membran sel sel ovarium maupun gangguan terhadap mekanisme sintesis folikel secara menyeluruh perkembangan folikel atau yang dikenal dengan istilah folikulogenesis. Hal tersebut selain dapat menginduksi terjadinya kerusakan folikel secara menyeluruh dapat juga menyebabkan oksidasi DNA pada folikel maupun korpus luteum (Budani *et al.*, 2017).

Hasil penelitian yang telah terungkap juga membuktikan bahwa paparan asap rokok dapat mengakibatkan terhadap penurunan jumlah folikel primordial maupun primer yang terjadi pada tikus (Camlin *et al.*, 2014 ; Tuttle *et al.*, 2019). Pengaruh ovarotoksik terhadap asap rokok juga telah terungkap dapat mengakibatkan hambatan atau atresia pada tahapan folikel secara keseluruhan yang sedang mengalami perkembangan. Hal ini dapat terjadi dan mengakibatkan jumlah folikel yang sedang mengalami perkembangan pada tahapan tersier dan menurunnya folikel de Graff. Sisi lain kondisi antrum yang semakin meningkat pada folikel tersier dan de Graff ini meningkat pada ukuran panjang maupun lebar ovarium. Hal tersebut terbukti dalam penelitian ini yaitu ukuran panjang dan lebar ovarium mencit betina galur DDY yang telah terpapar asap rokok dan hanya diberikan pengobatan berupa air putih saja lebih kecil jika dibandingkan dengan pengobatan berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring.

Sisi lain juga menjelaskan bahwa pengaruh antiestrogenik asap rokok dengan cara menurunkan kadar hormone estrogen dan progesteron. Hormon estrogen yang dihasilkan secara mayoritas ditemukan pada folikel antral ovarium. Kelangsungan perkembangan folikel ovarium secara idealnya terjaga oleh sel granulosa melalui adanya bantuan pada reseptor hormon gonadotropin yang hanya terdapat pada sel granulosa (Talakua and Unitley, 2020). Adanya kandungan nikotin pada asap rokok mampu menyebabkan terinduksinya nekrosis terhadap sel granulosa yang terdapat pada ovarium tikus (Camlin *et al.*, 2014). Sehingga hal tersebut menyebabkan adanya gangguan terhadap perkembangan folikel folikel dalam menurunkan kadar hormone estrogen. Adanya penurunan kadar hormone progesteron idealnya karena paparan asap rokok berpotensi dalam menghambat ekspansi cumulus ooforus serta kegagalan terbentuknya korpus luteum. Data hasil penelitian ini mengenai pengujian terhadap permukaan ovarium mencit betina galur DDY pada kelompok kontrol membuktikan terdapat beberapa bagian ovarium yang tidak terbentuk korpus luteum sebagai salah satu penanda tidak terjadinya proses ovulasi.

Sekresi hormon estrogen dan progesteron pada kondisi rendah berefek terhadap mekanisme folikulogenesis dimana tidak terdapatnya timbal balik secara negatif pada hipofisis, dan FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) secara tetap mengalami peningkatan ketika memasuki fase luteal. Sedangkan sekresi LH (*Luteinizing Hormone*) sedikit mengalami suatu hambatan. Pengaruh paparan asap rokok terhadap jangka panjang yaitu menurunnya sekresi hormon LH serta meningkatnya sekresi hormon FSH yang menyebabkan sulitnya terjadi proses ovulasi. Hasil penelitian ini, folikel tersier dan de Graaf tidak tersintesis sehingga ovarium berada pada langkah folikel primer. Hasil penelitian ini pun terbukti bahwa ukuran panjang dan lebar ovarium pun menjadi berkurang jika dibandingkan pada kondisi normal sebelum dipaparkan asap rokok. Perlakuan terapeutik berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring menghasilkan efek yang baik pada panjang maupun lebar ovarium mencit betina galur DDY pasca dipaparkan asap rokok. Adanya peningkatan ukuran mengenai panjang maupun lebar ovarium pada mencit betina galur DDY dapat terjadi beriringan dengan adanya jumlah mengenai penambahan dosis yang diberikan. Hal ini dapat terjadi karena adanya kandungan metabolit sekunder pada bunga kacapiring dan bersifat sebagai sumber antioksidan. Salah satu senyawa yang bersifat sebagai sumber antioksidan yang terkandung dalam bunga kacapiring yaitu flavonoid maupun polifenol. Kedua senyawa metabolit sekunder tersebut berpotensi dalam menangkalkan radikal bebas yang berasal dari paparan asap rokok dan masuk pada ovarium. Adanya kandungan senyawa metabolit sekunder terutama yang memiliki aktivitas farmakologi sebagai sumber antioksidan dari suatu tanaman berpotensi dalam memperbaiki organ reproduksi secara fungsional (Talukua and Unitly, 2020). Hasil penelitian ini telah terbukti bahwa paparan asap rokok dapat menyebabkan kerusakan pada ovarium yang ditandai adanya kerusakan ovarium sehingga penyusutan panjang maupun lebar ovarium dapat diobati dengan pemberian larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring. Larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring dengan kandungan flavonoid telah terbukti berpotensi dalam menangkalkan radikal bebas yang berasal dari lingkungan yang tercemar atau terpapar (Dila *et al.*, 2019). Hasil penelitian ini terbukti bahwa peningkatan radikal bebas dalam bentuk paparan asap rokok menjadi menurun. Hal tersebut dikarenakan adanya peningkatan pada jumlah dosis (larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring) yang diberikan, sehingga terjadi pula peningkatan mengenai panjang dan lebar ovarium terhadap mencit betina galur DDY.

3.2 Bobot Ovarium

Bobot atau berat ovarium mencit betina galur DDY yang diperoleh berdasarkan penimbangan ovarium bagian kanan dan kiri yang dirata-ratakan pasca pemberian asap roko tercantum pada tabel 4 dibawah ini.

Tabel 4. Rata-rata bobot ovarium mencit betina galur DDY

Perlakuan	N	Rata-rata bobot ovarium (gram)
T0	5	0.25
T1	5	0.45
T2	5	0.77
T3	5	0.82

Keterangan :

- T0 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan air putih
- T1 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 20%.
- T2 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 30%.
- T3 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 40%.
- N : Jumlah mencit pada setiap perlakuan

Tabel 4 yang tercantum diatas mengenai rata-rata bobot ovarium mencit betina galur DDY yang diberikan pengobatan berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pasca dipaparkan asap rokok adalah sebesar 0.25 gram pada kelompok kontrol (T0). 0,45 gram pada kelompok T1 yaitu berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 20% g/kg BB. 0,77 gram pada kelompok T2 yaitu berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring dengan dosis 30% g/Kg BB. 0,82 gram pada kelpmok T3 yaitu berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring derngan dosis 40% g/Kg BB. Hasil penelitian selanjutnya diukur melalui ANOVA yang tercantum pada tabel 5 dibawah ini.

Tabel 5. Hasil Uji ANOVA pada bobot ovarium mencit betina galur DDY

Perlakuan	F Hitung	Signifikasi	$\alpha=1\%$
Bobot Ovarium	17.845	0.000	0.01

Sumber : data primer SPSS 27 tahun 2021.

Tabel 5 yang tersaji diatas merupakan hasil uji ANOVA mengenai rata-rata bobot ovarium mencit betina galur DDY yang telah dikawinkan dan juga dipaparkan asap rokok. Hasil penelitian ini telah terbukti bahwa nilai signifikansi yang diperoleh sebesar 0.000 dan lebih kecil dibandingkan dengan nilai $\alpha=1\%$ ($p<0.01$) dapat disimpulkan bahwa pemberian pengobatan berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada mencit betina galur DDY pasca dikawinkan maupun paparan asap rokok berpengaruh secara nyata jika dibandingkan pada kelompok kontrol, sehingga dapat dilakukan uji lanjut berupa uji DMRT mengenai bobot ovarium mencit betina yang dapat dilihat pada tabel 6 dibawah ini.

Tabel 6. Hasil uji DMRT pada bobot ovarium mencit betina galur DDY

Perlakuan	N	Rata-rata bobot ovarium (gram)
T0	5	0.25 ^a
T1	5	0.45 ^{ab}
T2	5	0.77 ^c
T3	5	0.82 ^c

Notasi (a,b, dan c) membuktikan terdapat perbedaan nyata terhadap uji DMRT $\alpha=1\%$ (Sumber data primer SPSS 27, 2021)

Keterangan :

- T0 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan air putih
- T1 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 20%.
- T2 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 30%.
- T3 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 40%.
- N : Jumlah mencit pada setiap perlakuan

Hasil penelitian yang tercantum pada tabel 6 diatas mengenai analisis lanjut berupa uji DMRT terhadap rata-rata bobot ovarium mencit telah menunjukkan bahwa pemberian terapi berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring dosis 20% g/kg BB tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol dengan $\alpha=1\%$. Pemberian terapi berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 30% g/kg BB dan 40% g/kg BB berbeda nyata dengan kontrol pada $\alpha=1\%$. Pemberian larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 40% g/kg BB berbeda nyata dengan dengan larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 20% g/kg BB pada $\alpha=1\%$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa dosis tersebut merupakan perlakuan yang efektif dan berpengaruh secara nyata pada bobot ovarium mencit betina galur DDY.

Bobot ovarium adalah berat berupa massa ovarium pasca dipaparkan asap rokok dan pasca pemberian obat berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring dan telah teruji dengan cara menimbang pada bagian atas timbangan digital. Hasil penelitian ini yang telah terbukti melalui uji statistik ANOVA dan DMRT dengan $\alpha=1\%$ mengenai rata-rata bobot ovarium mencit betina galur DDY pasca dipaparkan asap rokok terbukti bahwa dosis larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring yang efektif dalam memperbaiki kualitas ovarium adalah 40% g/kg BB. Bobot ovarium mencit pasca dipaparkan asap rokok mengalami peningkatan seiring dengan penambahan dosis yang telah diberikan berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring.

Bobot ovarium mencit betina galur DDY yang sudah dipaparkan asap rokok pada kelompok kontrol telah membuktikan sebagai kelompok yang paling rendah jika dibandingkan dengan kelompok lainnya. Asap rokok yang terpapar berpotensi dalam menurunkan bobot ovarium pada mencit betina galur DDY. Hal tersebut disebabkan adanya jumlah folikel yang *mature* (matang) sangat berpengaruh terhadap penentuan bobot ovarium (Foster *et al.*, 2019). Folikel ovarium merupakan target utama pada organ reproduksi yang berpotensi untuk dirusak oleh asap rokok yang terpapar (Budani & Tiboni, 2017). Penurunan bobot ovarium

dapat terjadi karena kurangnya jumlah folikel de Graff yang secara ideal dapat mengalami ovulasi (Mardika *et al.*, 2018). Hal tersebut dapat terjadi karena antrum yang terdapat pada folikel tersier maupun folikel de Graff mengandung cairan yang berpotensi dalam meningkatkan bobot ovarium mencit betina galur DDY.

Kandungan nikotin yang terkandung pada asap rokok telah dikemukakan melalui berbagai hasil penelitian dapat masuk berupa cairan melalui suatu folikel, sehingga dapat menyebabkan rendahnya kadar estrogen pada cairan folikel dengan mekanisme inhibisi enzim aroma-tase yang dapat mengkonversi precursor dari androgen menjadi estrogen. Selain itu, kandungan logam berat berupa cadmium tidak hanya ditemukan pada bagian dalam cairan folikel, akan tetapi pada oosit mencit betina galur DDY yang dipaparkan oleh asap rokok (Budani & Tiboni, 2017). Kandungan lainnya seperti hidrokarbon aromatik polinuklir berupa benzo (a) *pyrene* atau B (a) p dapat menyebabkan meningkatnya hormone FSH dan LH sehingga folikel primordial maupun primer mengalami kegagalan dalam proses perkembangan hingga mencapai tahapan pra antral atau ovarium dan biasa pada kondisi ovarium yang prematur (Ye X *et al.*, 2020). Hal tersebut menyebabkan pula folikel yang gagal dapat mengalami atresia maupun pengerutan.

Asap rokok yang terpapar dapat memicu terjadinya stress oksidatif pada ovarium dan juga dapat diketahui mampu dalam merusak melalui mekanisme abnormalitas pada komunikasi sel oosit dan sel granulosa, disfungsi inti oosit, dan nekrosis maupun apoptosis yang terdapat pada sel granulosa (Budani & Tiboni, 2017). Stress oksidatif yang terjadi selain itu dapat mengarahkan ovarium terhadap sel granulosa dalam memasuki jalur autofagi melalui adanya marker atau penandaan ekspresi gen pada level protein (Atg) yang cenderung mengalami peningkatan. Protein jenis Atg berperan penting untuk memfagosit organel yang mengalami kerusakan meliputi folikel atresia. Aktifnya protein Atg yang terekspresi menyebabkan terjadinya penyusutan terhadap cadangan folikel primer pada ovarium (Gannon *et al.*, 2012). Folikel antral yang tidak tersintesis dan penyusutan pada jumlah cadangan folikel primer akibat asap rokok yang terpapar pada hasil penelitian ini diduga merupakan salah satu penyebab menurunnya pada bobot ovarium, sehingga terbukti pada kelompok kontrol yaitu mencit yang telah dipaparkan asap rokok berupa pemberian air putih biasa dibandingkan dengan pemberian terapi berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring.

Pemberian terapi berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring berpotensi dalam meningkatkan bobot ovarium pada mencit betina yang seiring dengan penambahan dosis yang diberikan. Kandungan antioksidan pada bunga kacapiring diduga berpotensi dalam menangkal radikal bebas yang terjadi dari paparan asap rokok. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas farmakologi sebagai sumber antioksidan meliputi flavonoid yang mempunyai struktur sama dengan estrogen berjenis 17 α estradiol yang dapat berikatan secara langsung terhadap reseptor ER (estrogen). Selain itu, kandungan saponin, steroid, tanin, dan terpenoid yang terkandung dalam bunga kacapiring masuk melalui jalur pada biosintesis hormon steroid yang dapat dikonversi menjadi estrogen (Eriani *et al.*, 2017). Kandungan saponin yang terkandung pada bunga kacapiring dapat menjadi salah satu bahan prioritas untuk mensintesis hormon steroid terutama hormon estrogen (Simatauw & Unitley, 2019). Hal tersebut mampu menginduksi adanya peningkatan terhadap kadar hormon estrogen yang terkandung dalam darah.

Peningkatan kadar hormon estrogen dalam darah kembali menjadi umpan balik terhadap hipotalamus dalam mensekresikan GnRF (*Gonadotropin Releasing Factor*). Sekresi pada GnRF mampu menginduksi hipofisis dalam memproduksi FSH sehingga dapat menginduksi perkembangan pada folikel primer menjadi folikel de Graff. Estrogen yang cenderung mengalami peningkatan dapat juga menginduksi terjadinya suatu lonjakan terhadap hormon LH sehingga dapat menyebabkan ovulasi dalam waktu yang tidak panjang (singkat) (Eriani *et al.*, 2017). Keadaan siklus pada ovarium mencit betina galur DDY ini memberikan pengaruh baik terhadap struktur luar (morfologi) ovarium khususnya kembali terjadi pada sintesis folikel dan korpus luteum yang dapat menyebabkan bobot ovarium pada mencit betina galur DDY mengalami peningkatan.

3.3 Jumlah Korpus Luteum

Rata-rata jumlah korpus luteum dari mencit betina galur DDY pasca dipaparkan asap rokok dan diberikan terapi dengan larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring selama 20 hari tercantum pada tabel 7 dibawah ini.

Tabel 7. Rata-rata jumlah korpus luteum pada mencit betina galur DDY

Perlakuan	N	Rata-rata jumlah korpus luteum
T0	5	9.5
T1	5	11.8
T2	5	13.45
T3	5	15.20

- T0 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan air putih
- T1 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 20%.
- T2 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 30%.
- T3 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 40%.
- N : Jumlah mencit pada setiap perlakuan

Tabel 7 yang terlampir diatas mengenai rata-rata jumlah korpus luteum telah terbukti pasca dipaparkan asap rokok dan terapi berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring berkisar antara 9 sampai 15 buah. Perincian mengenai rata-rata jumlah korpus luteum (KL) pasca pemberian asap rokok dan diterapi berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada kelompok T1 sebagai kontrol adalah 9,5 buah. 11.8 buah pada perlakuan kelompok T1 yang berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring dengan dosis 20% g/kg BB. 13.45 buah pada kelompok perlakuan T2 yang berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring dengan dosis 30% g/Kg BB. Serta 15.20 buah pada kelompok perlakuan T3 yang berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring. Data hasil penelitian selanjutnya dianalisis melalui ANOVA yang tercantum pada tabel 8 dibawah ini.

Tabel 8. Data hasil uji ANOVA pada rata-rata jumlah korpus luteum mencit betina galur DDY.

Parameter Uji	F hitung	Signifikasi	$\alpha=1\%$
Korpus Luteum	13.813	0.0000	0.01

Sumber : data primer SPSS 27 (2021)

Tabel 8 yang tercantum diatas mengenai analisis ANOVA pada rata-rata jumlah korpus luteum telah terbukti nilai signifikasi yang dihasilkan adalah sebesar 0.0000 dan lebih kecil jika dibandingkan dengan nilai $\alpha=1\%$ ($p>0.01$) sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian terapi pada larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pasca dipaparkan asap rokok terhadap mencit betina galur DDY berpengaruh secara nyata dibandingkan dengan kelompok perlakuan berupa kontrol. Data yang telah tersaji berupa analisis ANOVA yang tercantum pada tabel 8 diatas dapat dilakukan uji lanjut berupa analisis DMRT yang tercantum pada tabel 9 dibawah ini.

Tabel 9. Rata-rata jumlah korpus luteum pasca dipaparkan asap rokok pada mencit betina galur DDY dianalisis melalui uji DMRT

Perlakuan	N	Rata-rata jumlah korpus luteum
T0	5	9.5 ^a
T1	5	11.8 ^{ab}
T2	5	13.45 ^c
T3	5	15.20 ^c

Notasi (a,b, dan c) membuktikan terdapat perbedaan nyata terhadap uji DMRT $\alpha=1\%$ (Sumber data primer SPSS 27, 2021)

Keterangan :

- T0 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan air putih
- T1 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 20%.
- T2 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 30%.
- T3 : Mencit betina yang diberikan asap rokok dan kombucha bunga kacapiring pada dosis 40%.
- N : Jumlah mencit pada setiap perlakuan

Hasil penelitian yang tercantum pada tabel 9 diatas mengenai analisis lanjut berupa uji DMRT terhadap rata-rata jumlah korpus luteum pada mencit betina galur DDY telah menunjukkan bahwa pemberian terapi berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring dosis 20% g/kg BB tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol dengan $\alpha=1\%$. Pemberian terapi berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 30% g/kg BB dan 40% g/kg BB berbeda nyata dengan kontrol pada

$\alpha=1\%$. Pemberian larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 40% g/kg BB berbeda nyata dengan dengan larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 20% g/kg BB pada $\alpha=1\%$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa dosis tersebut merupakan perlakuan yang efektif dan berpengaruh secara nyata pada jumlah korpus luteum terhadap mencit betina galur DDY.

Korpus luteum yang terbentuk merupakan salah satu manifestasi terhadap proses keberhasilan ovulasi. Data hasil penelitian ini telah membuktikan bahwa jumlah korpus luteum pada mencit betina galur DDY pasca dipaparkan asap rokok dan pasca terapi berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada dosis 30% dan 40% g/Kg BB berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol dengan $\alpha=1\%$. Hal tersebut disebabkan karena adanya peningkatan dosis pada larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring, sehingga berpengaruh besar dalam meningkatkan jumlah korpus luteum pada mencit betina galur DDY. Hasil penelitian ini telah terbukti bahwa jumlah korpus luteum paling rendah terdapat pada perlakuan kontrol (T0), sehingga hal tersebut menyebabkan rendahnya kadar estrogen dan mengakibatkan hormon LH pada folikel de Graff tidak mengalami ovulasi dan tidak terbentuknya korpus luteum (Wicaksono *et al.*, 2013).

Pemberian terapi berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring pada mencit betina galur DDY yang telah terpapar oleh asap rokok diduga berpotensi dalam memperbaiki sel-sel ovarium terutama pada bagian folikel. Folikel yang mengalami perbaikan tersebut ditandai dengan adanya ovulasi kembali secara normal atau ideal. Hal tersebut disebabkan ovulasi dapat terjadi jika pada folikel primordial maupun primer dapat berkembang menjadi folikel tersier dan de Graff. Pemberian terapi dengan cara pemanfaatan fitokimia pada kandungan flavonoid terhadap mencit betina galur DDY yang telah mengalami paparan asap rokok dapat menginduksi terjadinya ovulasi dalam waktu yang cepat atau singkat (Eriani *et al.*, 2017), karena ovulasi yang cenderung mengalami peningkatan merupakan salah satu marker atau penanda mengenai semakin terjadinya peningkatan terhadap jumlah korpus luteum yang terbentuk.

Jumlah korpus luteum yang terbentuk secara idealnya 6 sampai 15 buah karena dalam satu individu mencit normalnya mampu melahirkan sebanyak 6 hingga 15 individu (Talakua & Unitly, 2020). Hasil penelitian ini telah terbukti bahwa jumlah korpus luteum yang terbentuk adalah 9 sampai 15 buah, sehingga berada dalam jumlah yang melebihi batas normal pada umumnya. Hasil penelitian ini pun telah membuktikan bahwa pemberian terapi berupa larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring telah sukses untuk memperbaiki kerusakan yang terjadi pada folikel ovarium selama 20 hari. Pemaparan asap rokok yang telah diberikan pada mencit betina galur DDY telah terbukti sama sekali tidak menyebabkan nekrosis secara meningkat terhadap folikel ovarium dan perbaikannya telah terbukti atau terjadi dalam waktu yang singkat.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan yaitu larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring (*Gardenia jasminoides* L) memiliki aktivitas farmakolgi terhadap mencit betina (*Mus musculus* L) yang terpapar asap rokok sehingga menghasilkan farmakodinamik yang baik terhadap kesuburan yang semakin meningkat dengan parameter uji yang dilakukan berupa morfometri dan meliputi panjang, lebar, bobot ovarium, dan jumlah korpus luteum pada mencit betina galur DDY. Dosis larutan fermentasi kombucha bunga kacapiring sebesar 40% g/Kg BB merupakan perlakuan yang terbaik serta paling efektif dalam memperbaiki kesuburan ovarium yang telah diuji pada mencit betina galur DDY beserta parameter ujiannya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ambarwati P. 2019. Asuhan Kebidanan Komunitas. Yogyakarta: Nuha Medika. P25-27.
- [2] Antina Rr & Selvia Nq. 2015. Pengaruh Ekstrak Etanol Moringa Oleifera Lam Terhadap Jumlah Folikel Antral Pada Mencit (*Mus Musculus*) Model Endometriosis. *Jurnal Ilmiah Obsgin*. X(Xxxx), 1-7.
- [3] Ajningrum Ps, Amilah S, & Widyaningtyas Pg. 2020. Efektivitas Ekstrak Rimpang Pacing (*Costus Speciosus*), Daun Srikaya (*Annona Squamosa* L.) Dan Ekstrak Kombinasinya Terhadap Penurunan Jumlah Folikel Tersier Dan Folikel De Graff Pada Mencit Betina (*Mus Musculus*). *Journal Of Pharmacy And Science*. 5(1), 33–37.
- [4] Budani Mc & Tiboni Gm. 2017. Ovotoxicity Of Cigarette Smoke: A Systematic Review Of The Literature. *Reproductive Toxicology*, 38(17), 1-53. Doi.Org/Doi:10.1016/J.Reprotox. 2017.06.184.
- [5] Budani Mc, Carletti E, & Tiboni Gm. 2018. Cigarette Smoke Alters The Expression Of Genes Involved In The Inflammatory Response In The Mouse Uterus. *Reproductive Toxicology*, 80 (2), 25–34.
- [6] Budani Mc & Tiboni Gm. 2017. Ovotoxicity Of Cigarette Smoke: A Systematic Review Of The Literature. *Reproductive Toxicology*, 38(17), 1-53. Doi.Org/Doi:10.1016/J.Reprotox. 2017.06.184.

- [7] Camlin Nj, Mclaughlina Ea, & Holt Je. 2014. Through The Smoke: Use Of In Vivo And In Vitro Cigarette Smoking Models To Elucidate Its Effect On Female Fertility. *Toxicology And Applied Pharmacology*, 281 (4), 266–275. Doi.Org/10.1016/J.Taap.2014.10.010.
- [8] Dila Rr, Soeharto S, & Dewi M. 2019. Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi (*Malus Sylvestris* Mill) Berbagai Dosis Dalam Mencegah Penurunan Berat Badan Bayi Tikus Baru Lahir Pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Bunting Yang Dipaparkan Asap Rokok. *Journal Of Issues In Midwifery*, 3(1), 11-19.
- [9] Eriani K, Wiladatika, & Suangkupon R. 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol Tumbuhan Anting-Anting (*Acalypha Indica* L.) Terhadap Kebuntingan Dan Fetus Mencit (*Mus Musculus*). *Bioleuser*, 1(1), 38-44.
- [10] Farida, F., Irawan, C., & Hilmansyah, H. (2018). Pembuatan Jelly Menggunakan Daun Kacapiring (*Gardenia Augusta* Merr.) Untuk Menambah Variasi Kuliner Kota Balikpapan. *Jshp: Jurnal Sosial Humaniora Dan Pendidikan*, 2(1), 51-58.
- [11] Foster Wg, Gannon Am, & Furlong Hc. 2019. *Human Ovarian Pathophysiology: Select Aspects*. Philadelphia: Elsevier. P178.
- [12] Gannon Am, Stampfli Mr, & Foster Wg. 2012. Dysregulation Of Mitochondrial Dynamics And Activation Of The Autophagy Cascade Occur In A Mouse Model Of Cigarette Smoke-Induced Ovarian Follicle Loss. *Supplement*, 98(3), 1-5.
- [13] Halimah An, Winarni S. & Dharminto. 2018. Paparan Rokok, Status Gizi, Beban Kerja Dan Infeksi Organ Reproduksi Pada Wanita Dengan Masalah Fertilitas Rs Sultan Agung Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 6(5), 202–208.
- [14] Mardika K, Setyawati I, & Darmadi Aak. 2018. Panjang Siklus Estrus Dan Struktur Histologi Ovarium Tikus Putih Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kaliandra Merah. *Jurnal Veteriner*, 19(3), 342-350.
- [15] Nani D. 2018. *Fisiologi Manusia: Siklus Reproduksi Wanita*. Jakarta: Penebar Plus. P43-44.
- [16] Prieto Dmm, Zacarias Pf, & Coxca Jmm. 2021. Smoking For Two- Effects Of Tobacco Consumption On Placenta. *Molecular Aspects Of Medicine*, 30(70), 1-14. Doi.Org/10.1016/J.Mam.2021.101023.
- [17] Rezaldi, F., Maruf, A., Pertiwi, F. D., Fatonah, N. S., Ningtias, R. Y., Fadillah, M. F., Sasmita, H., & Somantri, U. W. (2021). Narrative Review: Kombucha's Potential As A Raw Material For Halal Drugs And Cosmetics In A Biotechnological Perspective. *International Journal Mathla'ul Anwar Of Halal Issues*, 1(2), 43-56. <https://doi.org/10.30653/ijma.202112.25>
- [18] Rezaldi, F., Ningtyas, R. Y., Anggraeni, S. D., Ma'ruf, A., Fatonah, N. S., Pertiwi, F. D., Fitriyani, F., A. L. D., Us, S., Fadillah, M. F., & Subekhi, A. I. (2021). Pengaruh Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L) Sebagai Antibakteri Gram Positif Dan Negatif. *Jurnal Biotek*, 9(2), 169-185. <https://doi.org/10.24252/jb.v9i2.25467>
- [19] Simatauw, A. Z., & Unitly, A. J. A. (2019). Gambaran Siklus Estrus Tikus *Rattus Norvegicus* Terpapar Asap Rokok Setelah Diterapi Ekstrak Etanol Rumput Kebar (*Biophytum Petersianum Klotzsch*). *Rumphius Pattimura Biological Journal*, 1(1), 001-007.
- [20] Talakua Fc & Unitly Aja. 2020. Efek Pemberian Ekstrak Etanol Rumput Kebar (*Biophytum Petersianum Klotzsch*) Terhadap Peningkatan Jumlah Folikel Pada Ovarium Tikus (*Rattus Norvegicus*) Terpapar Asap Rokok. *Biofaal Journal*, 1(2), 74-84
- [21] Tuttle Ma, Stampfli M, & Foster Wg. 2019. Cigarette Smoke Causes Follicle Loss In Mice Ovaries At Concentrations Representative Of Human Exposure. *Human Reproduction*, 24(6), 1452-1459. Doi:10.1093/Humrep/Dep023.
- [22] Wahyuni, W., & Karim, S. F. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia Jasminoides* Ellis) Terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans*. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(4), 399-404.
- [23] Wicaksono Aw, Trilaksana Ignb, & Laksmi Dndi. 2013. Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum*) Terhadap Lama Siklus Estrus Pada Mencit. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2(4), 369-374.
- [24] Ye X, Pan W, Li C, Ma X, Yin S, Zhou J, & Liu J. 2020. Exposure To Polycyclic Aromatic Hydrocarbons And Risk For Premature Ovarian Failure And Reproductive Hormones Imbalance. *Journal Of Environmental Science*, 30(40). 1-9. Doi.Org/10. 1016/J.Jes.2019.12.015 *Sainstek*, 8(2), 35-40. <https://doi.org/10.19184/Bst.V8i2.15968>