

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH
(*Piper betle* L.) TERHADAP KETEBALAN ENDOMETRIUM MENCIT
BETINA (*Mus musculus* L.) PADA FASE ESTRUS**

(Skripsi)

Oleh

**WAYAN MITRI APRILIA SARI
NPM 2217021067**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP KETEBALAN ENDOMETRIUM MENCIT BETINA (*Mus musculus* L.) PADA FASE ESTRUS

Oleh

WAYAN MITRI APRILIA SARI

Endometrium merupakan lapisan mukosa uterus yang mengalami perubahan dinamis selama siklus reproduksi dan berperan penting dalam proses implantasi. Ketebalan endometrium pada fase estrus sangat dipengaruhi oleh hormon estrogen dan menjadi indikator penting keberhasilan reproduksi. Beberapa bahan alami, termasuk daun sirih (*Piper betle* L.), diketahui mengandung senyawa fitokimia yang berpotensi memengaruhi sistem reproduksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirih terhadap ketebalan endometrium serta menentukan dosis yang paling efektif pada mencit betina (*Mus musculus* L.) fase estrus. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan, yaitu kontrol dan tiga dosis ekstrak etanol daun sirih (9 mg/30gBB, 12 mg/30gBB, dan 15 mg/30gBB), masing-masing dengan lima ulangan. Ekstrak diberikan secara oral selama 14 hari. Parameter yang diamati adalah ketebalan endometrium melalui pengukuran histopatologi preparat uterus menggunakan mikroskop cahaya. Data dianalisis menggunakan uji Kruskal–Wallis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata ketebalan endometrium antar kelompok perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik ($p > 0,05$). Meskipun terdapat variasi nilai ketebalan secara deskriptif, pola penurunan ketebalan endometrium tidak konsisten seiring peningkatan dosis. Hal ini diduga dipengaruhi oleh dominasi estrogen endogen pada fase estrus serta dosis dan durasi pemberian ekstrak yang belum optimal. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirih belum mampu secara signifikan menurunkan ketebalan endometrium mencit betina pada fase estrus dan belum diketahui dosis yang paling efektif.

Kata kunci: endometrium, *Piper betle* L., fase estrus, mencit betina

ABSTRACT

THE EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF BETEL LEAF (*Piper betle* L.) ON ENDOMETRIAL THICKNESS OF FEMALE MICE (*Mus musculus* L.) IN THE ESTRUS PHASE

By

WAYAN MITRI APRILIA SARI

The endometrium is the mucosal lining of the uterus that undergoes dynamic changes during the reproductive cycle and plays an important role in the implantation process. Endometrial thickness during the estrus phase is strongly influenced by estrogen and serves as an important indicator of reproductive success. Several natural materials, including betel leaf (*Piper betle* L.), are known to contain phytochemical compounds that may affect the reproductive system. This study aimed to determine the effect of ethanol extract of betel leaf on endometrial thickness and to identify the most effective dose in female mice (*Mus musculus* L.) during the estrus phase. This study used a Completely Randomized Design (CRD) with four treatments, namely a control group and three doses of ethanol extract of betel leaf (9 mg/30g body weight, 12 mg/30g body weight, and 15 mg/30g body weight), each consisting of five replicates. The extract was administered orally for 14 days. The observed parameter was endometrial thickness measured through histopathological examination of uterine preparations using a light microscope. Data were analyzed using the Kruskal–Wallis test. The results showed that the average endometrial thickness among treatment groups did not show a statistically significant difference ($p > 0.05$). Although there were descriptive variations in thickness values, the pattern of endometrial thinning was not consistent with increasing doses. This may be influenced by the dominance of endogenous estrogen during the estrus phase, as well as the dose and duration of extract administration that may not have been optimal. Based on this study, it can be concluded that the administration of ethanol extract of betel leaf was not able to significantly reduce endometrial thickness in female mice during the estrus phase, and the most effective dose has not yet been determined.

Keywords: endometrium, *Piper betle* L., estrus phase, female mice.

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH
(*Piper betle* L.) TERHADAP KETEBALAN ENDOMETRIUM MENCIT
BETINA (*Mus musculus* L.) PADA FASE ESTRUS**

Oleh

Wayan Mitri Aprilia Sari

(Skripsi)

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL
DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP
KETEBALAN ENDOMETRIUM MENCIT
BETINA (*Mus musculus* L.) PADA FASE
ESTRUS

Nama Mahasiswa : Wayan Mitri Aprilia Sari
NPM : 2217021067
Jurusan/Program Studi : Biologi/ S-1 Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

I. Komisi Pembimbing

Pembimbing I



Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP. 196603051991032001

Pembimbing II



Primasari Pertiwi, S.Pd., M.Si.
NIP. 199307212022032007

II. Ketua Jurusan Biologi FMIPA



Dr. Jani Mastri, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua Penguji : **Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.**



Sekretaris : **Primasari Pertiwi, S.Pd., M.Si.**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Prof. Dr. Hendri Busman, M. Biomed.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 4 Maret 2026

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Wayan Mitri Aprilia Sari
NPM : 2217021067
Program Studi : S-1 Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul:

“Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Ketebalan Endometrium Mencit Betina (*Mus musculus* L.) pada Fase Estrus”

Apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini merupakan hasil karya saya sendiri. Segala sumber yang digunakan telah dicantumkan dengan kaidah penulisan ilmiah.

Demikian surat pernyataan ini saya buat, apabila di kemudian hari terbukti tidak sesuai dengan pernyataan ini, saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan yang berlaku.

Bandar Lampung, 4 Maret 2026

Yang Menyatakan,



Wayan Mitri Aprilia Sari

NPM. 2217021067

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Sido Binangun, pada tanggal 25 April 2004. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara oleh pasangan Bapak Wayan Mudite dan Ibu Made Nurhayati. Penulis beralamat di Dusun Wana Sari, Desa Swastika Buana, Kecamatan Seputih Banyak, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung. Penulis mengawali pendidikan pertamanya di TK Widya Sastra tahun 2009. Kemudian, pada tahun 2010 penulis melanjutkan pendidikan sekolah dasar di SD Negeri 03 Swastika Buana. Pada tahun 2016, penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 02 Way Seputih. Pada tahun 2019, penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Paramarta Seputih Banyak.

Pada tahun 2022, penulis tercatat sebagai salah satu mahasiswa Jurusan Biologi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah aktif di Organisasi Unit Kegiatan Mahasiswa Hindu Universitas Lampung sebagai Sekretaris Bidang Seni dan Olahraga di tahun 2023-2024.

Pada bulan Desember 2024 – Januari 2025, penulis telah melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di PT Great Giant Pineapple dengan judul “**Studi Sebaran Patogen Jamur *Pestalotia* sp. pada Komoditi Jambu Kristal Putih (*Psidium guajava* L.) di PT Great Giant Pineapple, Terbanggi Besar, Lampung Tengah**”. Kemudian, pada bulan Juli – Agustus 2025 penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Sukajawa Baru, Kecamatan Tanjung Karang Barat. Terakhir, penulis melaksanakan kegiatan penelitian di Laboratorium Botani, Zoologi, dan Balai Veteriner pada bulan September 2025.

MOTTO

“sarvaṃ jñāna-plavenaiva vṛjinam santariṣyasi”

“Dengan perahu ilmu pengetahuan, lautan dosa akan engkau seberangi”
(Bhagavad Gita IV.36)

“Mac-cittaḥ sarva-durgāṇi mat-prasādāt tariṣyasi”

“Dengan memusatkan pikiran kepada-Ku, atas rahmat-Ku engkau akan melewati segala kesulitan”
(Bhagavad Gita XVIII.58)

“Belum pernah aku berusaha sebegitu, tapi di tanganmu aku tumbuh”
(Nadin Amizah)

“It always seems impossible until it's done”

(sesuatu terasa mustahil sampai akhirnya berhasil diselesaikan)
(Nelson Mandela)

PERSEMBAHAN

Om Avighnam Astu Namō Siddham

Dengan mengucapkan syukur kepada Ida Sang Hyang Widhi Wasa yang telah memberikan berkat anugerah, kemudahan, kesehatan serta kekuatan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Ku persembahkan karya kecil ini untuk...

Kedua orangtua yang sangat saya cintai dan sayangi, Bapak Wayan Mudite dan Ibu Made Nurhayati, yang selalu memberikan semangat, kekuatan, doa serta dukungan kepada saya. Selalu membimbing saya dalam setiap rencana dan keputusan yang akan saya lakukan dan selalu berjuang serta berkorban agar yang saya butuhkan dapat terpenuhi. Kedua orang tua saya selalu bekerja keras untuk pendidikan dan masa depan anak-anaknya.

Kedua adik saya Kadek Mila Oktaviana dan Komang Melyana Anggraeni, yang juga selalu memberikan semangat serta dukungan.

Seluruh Bapak dan Ibu Dosen yang telah sabar dan ikhlas dalam menyampaikan, dan memberikan ilmu yang bermanfaat untuk saya.

Seluruh sahabat serta teman seangkatan yang selalu ada bersama-sama menjalani perkuliahan dan menjadi tempat untuk bercerita.

Serta Almameter tercinta yang menjadi kebanggaan saya dan akan selalu saya kenang sampai kapanpun

SANWACANA

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas anugerah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Ketebalan Endometrium Mencit Betina (*Mus musculus* L.) pada Fase Estrus”** dibuat sebagai bentuk pertanggungjawaban penulis selama menempuh pendidikan Strata 1 dan merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kesalahan dan kekurangan. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., IPM., ASEAN Eng., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
4. Ibu Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si., Ketua Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
5. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah dengan sabar memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi selama proses perkuliahan.
6. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M. Sc., selaku Pembimbing I yang senantiasa dengan sabar memberikan ilmu, arahan, bimbingan serta motivasi selama proses penyusunan skripsi.

7. Ibu Primasari Pertiwi, S.Pd., M.Si., selaku Pembimbing II yang telah memberikan ilmu, arahan, serta motivasi yang sangat berarti dalam proses penyusunan skripsi.
8. Bapak Prof. Dr. Hendri Busman, M. Biomed., selaku Pembahas yang senantiasa sabar memberikan ilmu, saran, motivasi dan arahan yang sangat berarti dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Seluruh dosen, staff, dan karyawan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
10. Kepada penyemangat dan *superhero*, Bapak Wayan Mudite yang selalu berjuang tanpa mengenal lelah demi mengupayakan yang terbaik untuk kehidupan penulis. Beliau memang tidak sempat merasakan Pendidikan sampai bangku perkuliahan, namun beliau mampu mendidik penulis, memotivasi, memberikan dukungan dan semangat serta selalu mengajarkan kebaikan dalam kehidupan penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan studi sampai sarjana.
11. Kepada *support system* tercinta, Ibu Made Nurhayati yang selalu memberikan motivasi, semangat, arahan, harapan, serta bersedia menjadi sandaran terkuat dari kerasnya dunia, terimakasih atas kasih sayang tanpa batas yang diberikan, mendoakan tanpa henti serta kesabaran dan pengorbanan yang selalu mengiringi perjalanan hidup penulis. Beliau adalah sosok yang menjadi sumber kekuatan dan inspirasi bagi penulis.
12. Kepada adik tersayang, Kadek Mila Oktaviana dan Komang Melyana Anggraeni yang selalu memberi semangat dan motivasi dalam setiap langkah perjuangan penulis. Meski kami kadang tidak akur, namun merekalah alasan penulis terus berusaha menempuh pendidikan dengan sungguh-sungguh. Semoga perjuangan penulis dapat menjadi motivasi dan pijakan bagi masa depan mereka yang lebih baik.
13. Kepada Komang Agung, terimakasih atas doa, dukungan, semangat dan perhatian serta kesabaran yang senantiasa diberikan kepada penulis selama proses penyusunan skripsi ini, terimakasih telah bersedia menjadi pendengar yang baik, hal tersebut sangat berarti bagi penulis.

14. Sahabat tersayang, Vania Yosinka Putri yang senantiasa menemani penulis dari awal perkuliahan hingga bersama-sama berjuang menyelesaikan skripsi ini. Selalu memberikan doa, uluran tangan, dukungan, serta motivasi dan menjadi pendengar yang baik untuk penulis. Selalu ada disaat penulis merasa sedih maupun bahagia.
15. Muhammad Rizki selaku rekan penelitian yang memberikan bantuan, dukungan selama pelaksanaan penelitian, dan selama proses penyusunan skripsi ini.
16. Sahabat PES tersayang, yaitu Ammara, Elce, Kimi, Liza, Lulu, Marcesa, terimakasih atas doa, dukungan, kebersamaan, dan kenyamanan yang diberikan sedari awal memulai perkuliahan hingga proses penyusunan skripsi ini.
17. Sahabat tersayang, Ni Made Puspa Dewi terimakasih senantiasa selalu memberikan doa, dukungan, uluran tangan, dan selalu mendengarkan keluh kesah penulis sejak duduk di bangku SMP hingga sekarang. Membantu penulis selama studi hingga proses penyusunan skripsi ini berlangsung.
18. Sahabat tersayang, Sang Ayu Putu Adelia terimakasih senantiasa selalu memberikan doa, semangat, dan dukungan sejak duduk di bangku SMA hingga sekarang. Membantu penulis selama studi hingga proses penyusunan skripsi ini berlangsung.
19. Teman-teman sepenelitian, Dita, Lidya, Yulita, Salsa, Israhul, Doni, dan Dedi yang selalu memberikan dukungan.
20. Addin Hidayatul Khasanah, teman kelas sekaligus seseorang yang bersedia berbagi tempat berteduh dan beristirahat selama penulis melaksanakan kegiatan PKL, terimakasih atas kebaikan dan dukungan kepada penulis sampai proses penyusunan skripsi ini.
21. Teman-teman UKM Hindu Unila (Pengurus Inti) yang telah memberikan cerita dan pengalaman selama perkuliahan.
22. Teman-teman KKN, Zahra, Dea, Khoirotul, Kania, Aulia, Moza, Albi, Bayu yang telah memberikan cerita dan kesan selama perkuliahan.

23. Teman-teman seperjuangan Biologi Angkatan 2022, yang telah memberikan cerita dan kesan selama perkuliahan.
24. Kepada diri sendiri, terimakasih telah mampu bertahan dan berjuang meskipun banyak keraguan dan ketakutan yang menyelimuti. Ini adalah awal dari perjalanan panjang menuju kehidupan yang sesungguhnya dan akan lebih banyak rintangan nantinya, semoga tetap selalu kuat, ikhlas, dan bekerja keras serta melibatkan Tuhan dalam setiap perjalanan.

Semoga Tuhan membalas kebaikan semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis sampai detik ini. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dan masih banyak kekurangan, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran dari kalian. Semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua. Svaha.

Bandar Lampung, 04 Maret 2026

Penulis

Wayan Mitri Aprilia Sari

DAFTAR ISI

COVER.....	i
ABSTRAK.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
MENGESAHKAN.....	iv
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	v
RIWAYAT HIDUP.....	vi
MOTTO.....	vii
PERSEMBAHAN.....	viii
SANWACANA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	I-1
1.2. Tujuan Penelitian.....	2
1.3. Kerangka Pikir.....	3
1.4. Hipotesis.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tanaman Sirih (<i>Piper betle</i> L.).....	6
2.1.1. Klasifikasi Tanaman Sirih (<i>Piper betle</i> L.)	6
2.1.2. Morfologi Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.)	7
2.1.3. Kandungan dan Manfaat Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.).....	8
2.2 Mencit (<i>Mus musculus</i> L.).....	9
2.2.1 Gambaran Umum Mencit (<i>Mus musculus</i> L.).....	9
2.2.2 Klasifikasi Mencit (<i>Mus musculus</i> L.)	9
2.2.3 Sistem Reproduksi pada Mencit Betina	9
2.3. Siklus Estrus	14

III.METODE PENELITIAN	16
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.2. Alat dan Bahan	16
3.2.1. Alat	16
3.2.2. Bahan.....	17
3.3. Pelaksanaan Penelitian	17
3.3.1. Kandang Mencit	17
3.3.2. Pemeliharaan Hewan Uji (Mencit).....	17
3.3.3. Pembuatan Ektrak Etanol Daun Sirih	18
3.3.4. Perhitungan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirih	19
3.3.5. Rancangan Penelitian	19
3.3.6. Pengambilan Organ Uterus	20
3.3.7. Pembuatan Preparat Histopatologi	21
3.3.8. Pemeriksaan Preparat Histopatologi	22
3.3.9. Parameter Pengamatan	22
3.3.10. Pengolahan Data.....	22
3.3.11. Diagram Alir Penelitian.....	23
IV.HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1. Ketebalan Lapisan Endometrium Mencit Betina (<i>Mus musculus L.</i>)	24
4.2. Dosis Efektif Ekstrak Etanol Daun Sirih (<i>Piper betle L.</i>).....	29
V. SIMPULAN DAN SARAN	31
5.1. Simpulan.....	31
5.2. Saran.....	31
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN.....	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perlakuan dan Dosis Perlakuan	20
2. Data Pengukuran Rata-Rata Ketebalan Endometrium Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.).....	25
3. Hasil Uji Kruskal Wallis Rata-Rata Ketebalan Endometrium Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.).....	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Sirih (<i>Piper betle</i> L.)	6
2. Daun Sirih (<i>Piper betle</i> L.)	7
3. Siklus Hidup Mencit	10
4. Histologi Uterus Tikus Putih	11
5 Histologi Endometrium Tikus Putih	12
6. Histologi Endometrium Tikus Putih	13
7. Diagram Alir Penelitian	23
8. Pengukuran ketebalan endometrium.....	27
9. Pengukuran ketebalan endometrium.....	28

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Endometrium merupakan lapisan mukosa kompleks di dalam uterus (rahim) yang kaya pembuluh darah dan menjadi tempat implantasi ovum yang telah dibuahi. Secara morfologis, jaringan ini tersusun atas dua lapisan utama, yaitu lapisan basal dan lapisan fungsional (Ruiz-Alonso dkk., 2012). Pada fase estrus (pada hewan) atau siklus reproduksi pada manusia, lapisan endometrium mengalami proliferasi dan penebalan untuk mempersiapkan implantasi embrio. Ketebalan endometrium menjadi salah satu faktor penting dalam penentuan keberhasilan reproduksi, karena implantasi hanya dapat berlangsung apabila lapisan tersebut cukup tebal, sehat, dan responsif terhadap hormon. Apabila endometrium tidak berkembang dengan baik atau menjadi terlalu tipis, maka peluang terjadinya implantasi akan menurun (Guyer dkk., 2020).

Endometrium dapat mengalami beberapa kelainan yang mempengaruhi ketebalan dan fungsinya. Salah satu contoh kelainan yang terjadi adalah endometrium tipis (*thin endometrium*), yang mengakibatkan rendahnya tingkat implantasi dan kehamilan (Liu dkk., 2018). Kondisi ini dapat disebabkan oleh ketidakseimbangan hormon, gangguan proliferasi sel, atau paparan zat tertentu yang menghambat pertumbuhan lapisan endometrium. Endometrium yang tipis tidak dapat menyediakan lingkungan yang optimal untuk menempelnya embrio, sehingga implantasi gagal (Zhao dkk., 2012). Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa bahan alami tertentu dapat mempengaruhi pertumbuhan endometrium, misalnya dengan menghambat

penebalannya (Setyowati dkk., 2015). Salah satu bahan alami yang berpotensi menurunkan ketebalan endometrium adalah daun sirih (*Piper betle* L.)

Tanaman sirih (*Piper betle* L.) terutama pada bagian daunnya telah lama dikenal dalam pengobatan tradisional, sejumlah penelitian membuktikan bahwa ekstrak daun sirih dapat memengaruhi proses fisiologis reproduksi pada hewan percobaan. Ratnasooria dan Pemakumara (1997) membuktikan bahwa kandungan bioaktif pada daun sirih mampu menghambat kesuburan mencit putih jantan secara tidak permanen. Penelitian oleh Zakri dkk. (2023) juga mengungkapkan bahwa kandungan yang ada di dalam daun sirih yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid mampu menurunkan tingkat kesuburan mencit jantan. Sementara itu, Shah dan Jhade (2018) membuktikan bahwa ekstrak alkoholik daun sirih mampu memberikan perubahan fisiologis uterus pada mencit betina. Penelitian-penelitian ini menunjukkan bahwa daun sirih berpotensi untuk mempengaruhi jaringan reproduksi, termasuk endometrium.

Berdasarkan uraian tersebut, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi efek ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dalam menurunkan ketebalan endometrium pada individu betina, dengan menggunakan mencit betina (*Mus musculus* L.) sebagai model hewan uji. Penelitian ini difokuskan pada fase estrus, karena fase ini merupakan periode ketika uterus berada dalam kondisi optimal untuk implantasi, sehingga perubahan pada ketebalan endometrium lebih mudah diamati. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk menentukan dosis ekstrak etanol daun sirih yang paling efektif dalam menurunkan ketebalan endometrium.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Untuk mengetahui ketebalan lapisan endometrium pada fase estrus mencit betina (*Mus musculus* L.) setelah pemberian ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.).

2. Untuk menentukan dosis ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) yang paling efektif dalam mempengaruhi ketebalan lapisan endometrium mencit betina (*Mus musculus* L.).

1.3. Kerangka Pikir

Endometrium merupakan lapisan mukosa yang mengalami perubahan dinamis selama siklus reproduksi. Pada fase estrus, endometrium berada pada kondisi paling optimal untuk implantasi karena mengalami proliferasi dan penebalan sebagai respons terhadap hormon estrogen. Ketebalan endometrium sangat penting dalam keberhasilan implantasi; apabila lapisan ini terlalu tipis, maka proses penempelan embrio tidak dapat berlangsung dengan baik, sehingga peluang keberhasilan reproduksi menurun.

Beberapa kondisi dapat menyebabkan endometrium menjadi tipis, seperti gangguan hormonal, gangguan proliferasi sel, atau paparan senyawa tertentu yang menghambat pertumbuhan jaringan endometrium. Beberapa penelitian membuktikan bahwa bahan alami tertentu dapat memengaruhi struktur dan ketebalan endometrium, termasuk tanaman sirih (*Piper betle* L.) yang diketahui memiliki aktivitas biologis terhadap organ reproduksi.

Ekstrak daun sirih mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid yang telah terbukti memengaruhi sistem reproduksi.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih dapat menurunkan kesuburan hewan coba, baik pada mencit jantan maupun betina, melalui mekanisme yang berkaitan dengan penghambatan implantasi atau hambatan pertumbuhan endometrium. Dengan adanya bukti tersebut, daun sirih diduga berpotensi memberikan pengaruh terhadap ketebalan endometrium pada mencit betina.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh ekstrak etanol daun sirih terhadap ketebalan endometrium mencit betina pada fase estrus. Penelitian juga ditujukan untuk menentukan dosis yang

paling efektif dalam menurunkan ketebalan endometrium. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang potensi ekstrak daun sirih dalam memengaruhi fisiologi reproduksi, khususnya terkait perubahan pada lapisan endometrium.

1.4. Hipotesis

Adapun hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dapat menurunkan ketebalan endometrium mencit betina (*Mus musculus* L.) pada fase estrus.
2. Terdapat perbedaan efektivitas antar dosis ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dalam menurunkan ketebalan endometrium mencit betina (*Mus musculus* L.) dan terdapat satu dosis yang memberikan pengaruh paling besar.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

2.1.1. Klasifikasi Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

Tanaman sirih (*Piper betle* L.) adalah tanaman asli Indonesia yang hidup merambat pada batang pohon lain. Tanaman ini mampu tumbuh bertahan hidup pada iklim tropis. Sirih umumnya tumbuh pada tempat dengan ketinggian 200-1000 mdpl yang memiliki curah hujan 2250-4750 mm per tahun. Tanaman ini dapat bertahan hidup di tanah yang lembab, sejuk dan terhindar dari angin kencang (Dalimartha, 2006). Tanaman sirih (*Piper betle* L.) hidup dengan merambat pada batang pohon lain dengan iklim yang tropis dan dapat tumbuh mencapai tinggi 10 meter, dapat dilihat pada **Gambar 1**. Tanaman ini memiliki akar tunggang yang berbentuk bulat dengan warna coklat kekuningan. Batang sirih memiliki warna coklat kehijauan dengan bentuk yang bulat dan memiliki ruas sebagai tempat keluarnya akar (Sarjani dkk., 2017).



Gambar 1. Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

Tanaman sirih termasuk dalam famili tumbuhan *Piperaceae*. Adapun klasifikasi sirih menurut Tjitrosoepomo (1993) adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Magnoliopsida
Bangsa : Piperales
Suku : Piperaceae
Marga : Piper
Jenis : *Piper betle*

2.1.2. Morfologi Daun Sirih (*Piper betle* L.)

Daun sirih merupakan jenis daun tunggal yang memiliki bentuk seperti jantung dan mengkilap pada permukaan daunnya yang dapat dilihat pada **Gambar 2**. Daun sirih memiliki tulang daun menyirip yang jelas terlihat serta memiliki ujung daun yang runcing, bertangkai, tumbuh berselang-seling, dan aromanya yang khas akan tercium apabila daun diremas (Sarjani dkk., 2017). Daun sirih memiliki panjang 6-17,5 cm dengan lebar daun 3,5-10 cm. Tanaman sirih mempunyai bunga yang bersifat majemuk dengan bentuk bulir dan merunduk. Bunga tanaman sirih tertutup oleh braktea (daun pelindung) yang berbentuk lonjong dengan diameter sekitar 1 mm (Koensoemardiyah, 2010).



Gambar 2. Daun Sirih (*Piper betle* L.) (Sarjani dkk., 2017)

2.1.3. Kandungan dan Manfaat Daun Sirih (*Piper betle* L.)

Daun sirih memiliki aroma yang khas, hal ini dikarenakan daun sirih mengandung minyak atsiri, air, protein, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, vitamin A, vitamin B, vitamin C, yodium, gula, dan pati. Minyak atsiri mengandung fenol alami dengan daya antiseptik yang lebih kuat namun minyak atsiri adalah minyak yang mudah menguap (Hossain dkk., 2016).

Daun sirih mengandung air (85-90%), lemak (0,4-1%), lemak esensial (0,08- 0,2%), klorofil (0,01-0,25%), protein (3-3,5%), karbohidrat (0,5-6,1%), mineral (2,3-3,3%), lemak (0,4-1%), serat (2,3%), minyak atsiri (0,08-0,2%), tanin (0,1-1,3%), alkaloid. Daun sirih juga mengandung vitamin, seperti vitamin C (0,005- 0,01%), asam nikotinat (0,63-0,89mg/100gms), vitamin A (1,9-2,9mg/100gms), thiamin (10- 70 μ g/100gms), riboflavin (1,9-30 μ g/100gms) (Salehi, 2019), selain itu daun sirih juga mengandung mineral seperti kalsium (0,2-0,5%), besi (0,005-0,007%), yodium (3,4 μ g/100gms), fosfor (0,05-0,6%), kalium (1,1-4,6%) (Chauhan dkk., 2016).

Susetyarini (2009) menyatakan bahwa kandungan senyawa fitokimia pada daun sirih yaitu alkaloid, flavonoid dan triterpenoid dapat bersifat mengganggu tingkat kesuburan. Adnan (1992) menyatakan senyawa dari tumbuhan dapat digunakan sebagai bahan untuk menurunkan kesuburan umumnya berasal dari golongan steroid, alkaloid, dan flavonoid.

Setyowati dkk. (2015) membuktikan bahwa senyawa golongan flavonoid dan alkaloid dapat menekan tingkat fertilitas dengan cara mengganggu fungsi ovarium, uterus atau vagina.

Alkaloid, terutama alkaloid steroid sangat mirip dengan saponin yang digunakan sebagai bahan dasar sintesis beberapa hormon steroid untuk bahan kontrasepsi oral. Senyawa flavonoid merupakan bahan aktif bersifat estrogenik atau menyerupai estrogen. Zat yang strukturnya analog hormon estrogen akan terikat pada reseptor hormon, tetapi tidak

menstimulasi reseptor tersebut. Jika menempati reseptor hormon estrogen akibatnya aksi hormon pada sel target akan berkurang (Adani dkk., 2017).

2.2 Mencit (*Mus musculus* L.)

2.2.1 Gambaran Umum Mencit (*Mus musculus* L.)

Mencit (*Mus musculus* L.) adalah hewan yang memiliki ukuran dan bobot yang lebih kecil dibandingkan dengan tikus. Mencit adalah hewan yang umum digunakan sebagai hewan uji dengan persentase penggunaan berkisar 40-80%. Hewan ini banyak digunakan dalam penelitian biologi, hal ini dikarenakan mencit memiliki siklus hidup yang relatif pendek, mudah untuk berkembang biak dan mudah dalam perawatannya (Suckow dkk., 2001). Mencit adalah hewan omnivora dan bersifat *prolific* (memiliki kemampuan beranak banyak) dengan ukuran yang kecil dan tidak agresif. Hewan ini mudah diperoleh dan harga yang terjangkau. Mencit seringkali terlihat melakukan gerakan menggali dan bersarang, perilaku ini bertujuan untuk mempertahankan suhu tubuh (Rejeki dkk., 2018).

2.2.2 Klasifikasi Mencit (*Mus musculus* L.)

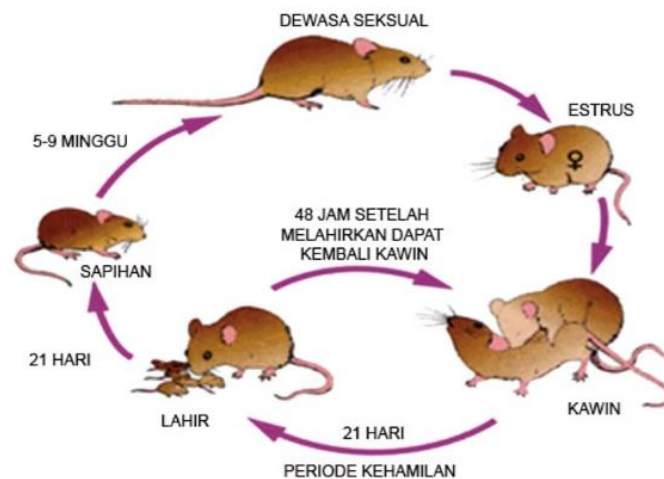
Menurut Gruneberg (1943) klasifikasi mencit adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Murinae
Marga	: Mus
Jenis	: <i>Mus musculus</i>

2.2.3 Sistem Reproduksi pada Mencit Betina

Mencit (*Mus musculus* L.) adalah hewan yang memiliki rambut berwarna putih atau keabu-abuan dengan warna pada perut yang sedikit lebih

padar. Mencit termasuk golongan hewan nokturnal karena aktif pada malam hari. Hewan ini mampu bertahan hidup selama 1-2 tahun dan pada umur 8 minggu mencit sudah bisa dikawinkan. Mencit memiliki masa kebuntingan yang pendek (18-21 hari) dengan masa aktivitas yang lama (2-14 bulan) sepanjang hidupnya (Muliani, 2011). Mencit mencapai fase dewasa pada umur 35 hari dan dapat dikawinkan pada umur 5-9 minggu, hal ini dapat dilihat pada **Gambar 3**. Perkawinan pada mencit dapat terjadi pada fase estrus pada mencit betina. Siklus estrus ini berlangsung selama 4-5 hari, lama bunting berkisar antara 19-21 hari. Bobot tubuh mencit jantan berkisar antara 20-40 gram sedangkan mencit betina 25-40 gram (Rejeki dkk., 2018).



Gambar 3. Siklus Hidup Mencit (Meehan, 1984)

Adapun organ reproduksi pada mencit betina adalah sebagai berikut:

a. Ovarium

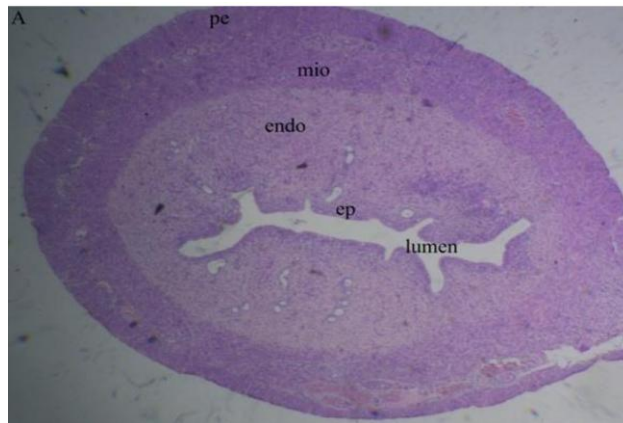
Ovarium merupakan organ reproduksi primer yang berperan sebagai tempat dihasilkannya ovum atau sel telur yang akan dibuahi oleh spermatozoa. Organ ini memiliki ukuran yang tergantung pada umur dan siklus reproduksinya (Hardjopranjoto, 1995). Ovarium memiliki tekstur bergerigi kenyal. ovarium pada beberapa mamalia memiliki bentuk oval seperti anggur. Memiliki warna merah hati, warna merah hati pada ovarium diduga akibat pengaruh hormonal dan kapiler darah (Nalbandov, 1990).

b. Oviduk

Saluran oviduk terdiri atas lima bagian, yaitu infundibulum, magnum, isthmus, uterus, dan vagina (Samudra, 2016). Oviduk berfungsi untuk menerima folikel yang telah matang. Pada hewan yang belum mencapai kematangan seksual, ukuran ovarium dan oviduk masih kecil. Pertumbuhan dan perkembangan saluran reproduksi ini dipengaruhi oleh kerja hormon-hormon reproduksi. Tingkat kandungan protein dalam pakan menjadi salah satu faktor yang memengaruhi panjang oviduk, karena protein berperan sebagai bahan dasar pembentuk hormon dan enzim (Yuwanta, 2010).

c. Uterus

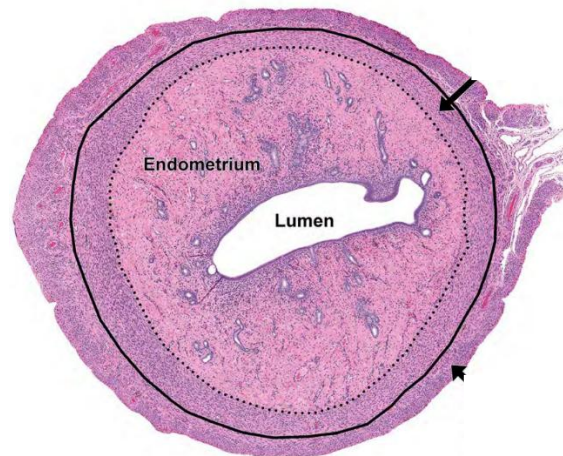
Uterus merupakan salah satu organ reproduksi pada betina yang berperan sebagai tempat penerimaan dan perkembangan ovum setelah terjadi pembuahan. Pada tikus, uterus memiliki bentuk tabung ganda yang dikenal sebagai tipe dupleks (Partodihardjo, 1988). Secara histopatologis, dinding uterus tersusun atas tiga lapisan utama yaitu endometrium, miometrium, dan perimetrium (Ozdemir dan Atalar, 2009) dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Histologi Uterus Tikus Putih (Harlita dkk., 2015).

Endometrium adalah mukosa yang mengandung banyak pembuluh darah yang membatasi bagian dalam rahim. Miometrium yang tersusun dari otot polos, dengan pola melingkar di bagian dalam dan memanjang di bagian luar. Sementara itu, perimetrium terdiri

atas jaringan ikat dan mengandung sejumlah pembuluh darah (Ozdemir dan Atalar, 2009) dapat dilihat pada **Gambar 5**.



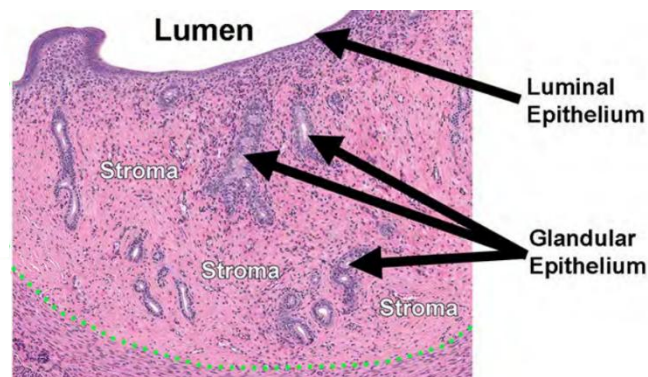
Gambar 5 Histologi Endometrium Tikus Putih (Lang dkk., 2024)

Endometrium pada tikus tersusun atas dua komponen utama, yaitu lapisan epitel dan jaringan penunjang di bawahnya (lamina propria). Epitel permukaan endometrium umumnya berupa epitel kolumnar sederhana, yang pada banyak bagian memiliki silia di permukaannya. Silia ini berperan membantu pergerakan sekresi intrauterin serta memfasilitasi distribusi bahan-bahan penting di dalam lumen uterus, terutama selama fase yang aktif secara hormonal (Gartner dan Hiatt, 1997). Di bawah lapisan epitel ini terdapat lamina propria, yaitu lapisan jaringan ikat longgar yang kaya sel.

Lamina propria terdiri atas serabut-serabut kolagen halus, fibroblas sebagai sel utama penyusunnya, serta berbagai sel imun termasuk limfosit yang tersebar di antara matriks jaringan (Saruhan dkk., 2006). Komposisi sel dan matriks dalam lamina propria ini dapat mengalami perubahan sesuai tahap siklus estrus, seperti meningkatnya edema atau perubahan kepadatan sel stroma. Selain berfungsi sebagai penyangga epitel, lamina propria juga merupakan tempat keberadaan kelenjar endometrium. Kelenjar uterus ini

berbentuk tubular dan memanjang ke dalam lapisan stroma, berperan menghasilkan sekret yang penting untuk mempersiapkan uterus terhadap implantasi serta mendukung lingkungan intrauterin selama respons hormon berlangsung.

Secara histologis, permukaan endometrium dilapisi oleh epitel luminal yang terdiri dari sel-sel epitel silindris sederhana yang berfungsi sebagai lapisan pelindung dan sebagai media komunikasi hormon. Sementara itu, epitel glandular membentuk kelenjar di dalam endometrium dan secara aktif mengeluarkan zat-zat. Aktivitas dan bentuk kelenjar ini sangat dipengaruhi oleh perubahan kadar estrogen dan progesteron selama siklus estrus (Saruhan dkk., 2006) dapat dilihat pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Histologi Endometrium Tikus Putih (Lang dkk., 2024)

d. Vagina

Vagina merupakan saluran berbentuk tabung yang melengkung ke arah depan, tersusun atas jaringan otot dan membran, serta berfungsi menghubungkan vulva dengan uterus. Vagina berperan sebagai jalur keluarnya uterus, organ untuk hubungan seksual, serta jalan lahir saat persalinan. Dua pertiga bagian atas vagina berasal dari duktus Mulleri, sedangkan sepertiga bagian bawahnya berkembang dari sinus urogenitalis. Di bagian atas vagina terdapat tonjolan serviks atau leher rahim, yang dikenal sebagai porsio uteri. (Azizah dkk., 2023)

2.3. Siklus Estrus

Siklus estrus adalah suatu rangkaian perubahan fisiologis dan hormonal yang terjadi pada mencit berlangsung secara berulang. Siklus ini dipengaruhi oleh hormon reproduksi yaitu estrogen dan progesteron yang dapat mempengaruhi aktivitas ovarium, uterus, dan kondisi jaringan reproduksi (Haryanto dkk., 2019). Siklus estrus mencit setara dengan siklus menstruasi pada hewan primata dan manusia. Siklus estrus pada mencit berlangsung singkat yaitu sekitar 4-5 hari, sehingga perubahan yang terjadi pada struktur jaringan reproduksi terjadi secara cepat mengikuti fluktuasi hormonal. Perubahan kadar estradiol selama siklus estrus sangat mempengaruhi ketebalan endometrium uterus mencit. Siklus estrus dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti faktor nutrisi, hormonal, faktor fotoperiodisme, dan faktor stres lingkungan lainnya (Sitasiwi, 2008).

Siklus estrus pada mencit betina terdiri dari empat tahap secara berurutan yaitu sebagai berikut:

1. Fase Proestrus

Fase proestrus adalah tahap awal dalam siklus estrus yang ditandai dengan pertumbuhan dan pematangan folikel ovarium serta peningkatan kadar hormon estrogen secara bertahap. Peningkatan estrogen pada fase ini mulai merangsang proliferasi sel epitel uterus dan stroma endometrium, meskipun belum mencapai kondisi maksimal seperti pada fase estrus. Secara sitologis, fase proestrus ditandai dengan dominasi sel epitel berinti pada ulas vagina. Perubahan hormonal dan histologis pada fase ini menunjukkan bahwa uterus mulai memasuki fase proliferasi sebagai respons terhadap stimulasi estrogen (Haryanto dkk., 2019).

2. Fase Estrus

Pada fase estrus, hormon estrogen memegang peranan penting dalam memperlihatkan tingkah laku estrus pada hewan betina, sedangkan hormon progesteron berfungsi antara lain untuk menyiapkan implantasi pada uterus (Tiro dkk., 2020). Peningkatan kadar estrogen memicu perubahan fisiologis pada saluran reproduksi, termasuk peningkatan vaskularisasi

uterus, proliferasi epitel endometrium, serta peningkatan aktivitas kelenjar uterus. Kondisi ini menyebabkan lapisan endometrium mengalami penebalan sebagai respon terhadap stimulasi hormonal. Fase estrus sering disebut sebagai fase proliferasi karena terjadi peningkatan mitosis sel epitel dan stroma endometrium (Hardjopranjoto, 1995). Fase estrus sering digunakan sebagai fase pengamatan dalam penelitian terkait proliferasi jaringan reproduksi, termasuk pengukuran ketebalan endometrium. Pada fase ini uterus berada dalam kondisi fisiologis aktif dan responsif terhadap faktor internal maupun eksternal, sehingga perubahan ketebalan endometrium dapat diamati secara lebih jelas (Sitasiwi, 2008).

3. Fase Metestrus

Fase ini merupakan fase transisi setelah estrus yang ditandai dengan terjadinya ovulasi dan mulai meningkatnya kadar hormon progesteron akibat pembentukan korpus luteum. Pada fase ini kadar estrogen menurun, sementara progesteron mulai mengambil peran dalam memengaruhi kondisi uterus. Secara histologis, endometrium mulai menunjukkan perubahan dari fase proliferasi menuju fase sekresi awal. Pada pengamatan dengan metode ulas vagina, fase metestrus ditandai dengan campuran sel epitel dan leukosit sebagai indikasi perubahan hormonal pasca ovulasi (Tiro dkk., 2020).

4. Fase Diestrus

Fase diestrus merupakan fase istirahat dalam siklus estrus yang ditandai dengan dominasi hormon progesteron dan aktivitas reproduksi yang lebih rendah. Pada fase ini, endometrium tidak mengalami proliferasi aktif seperti pada fase estrus, melainkan berada dalam kondisi stabil atau regresif apabila tidak terjadi kebuntingan. Secara sitologi vagina, fase diestrus ditandai dengan dominasi leukosit. Fase ini berperan sebagai periode pemulihan sebelum siklus kembali ke fase proestrus (Sitasiwi, 2008).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Zoologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung pada bulan September-Desember 2025.

Pembuatan ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) dilakukan di Laboratorium Botani I Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Pembedahan mencit, pengambilan uterus dan pembuatan preparat histologi uterus dilakukan di Laboratorium Patologi BPPV (Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner) Regional III Bandar Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: pipet oral untuk memasukkan larutan ekstrak etanol daun sirih melalui rongga mulut mencit, kandang mencit yang terbuat dari kawat dan papan berjumlah 20 kandang, tempat makanan dan minuman mencit, *rotary evaporator* untuk memekatkan ekstrak daun sirih, seperangkat alat bedah untuk membedah mencit, tabung erlenmeyer untuk menyimpan ekstrak etanol daun sirih, botol kecil untuk menyimpan awetan uterus, alat pemrosesan jaringan seperti mikrotom, cetakan parafin, *tissue cassette*, dan mesin prosessor otomatis, objek dan *cover glass* untuk preparat, mikroskop cahaya untuk pemeriksaan sediaan, kertas label yang digunakan untuk pemberian nama perlakuan pada kandang mencit dan preparat, kamera HP untuk pengambilan foto dan gambar.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah 20 ekor mencit betina fertil berumur 2-3 bulan dengan kisaran berat 25-30 gram, pakan standar sebagai makanan mencit, minyak imersi untuk memperjelas objek yang akan diamati, ekstrak etanol daun sirih, dan akuades untuk pengenceran ekstrak etanol daun sirih.

Daun sirih (*Piper betle* L.) yang digunakan dalam penelitian ini dipilih berdasarkan kriteria morfologis tertentu, yaitu daun berwarna hijau tua, utuh, tidak mengalami kerusakan mekanik, serta bebas dari gejala serangan hama dan penyakit. Daun sirih diperoleh dari satu lokasi dan tanaman yang homogen untuk meminimalkan variasi lingkungan dan fisiologis. Pemanenan daun dilakukan pada pagi hari, dengan bagian daun yang dipetik merupakan daun ke-3 hingga ke-5 dari pucuk, yang dianggap telah mencapai tingkat kematangan fisiologis optimal dan relatif seragam untuk keperluan ekstraksi senyawa bioaktif (Sarjani dkk., 2017).

3.3. Pelaksanaan Penelitian

3.3.1. Kandang Mencit

Kandang yang digunakan untuk pemeliharaan mencit selama penelitian terbuat dari bahan kawat yang berjumlah 20 unit dengan ukuran 15×15 cm.

3.3.2. Pemeliharaan Hewan Uji (Mencit)

Hewan uji yang digunakan adalah mencit betina fertil yang berumur 2-3 bulan yang memiliki berat kisaran 25-30 gram (Alfiyanti dkk., 2019) yang diperoleh dari Minimouse Mencit Sukarame, Bandar Lampung. Hewan uji diaklimatisasi di dalam laboratorium selama satu minggu agar mencit mampu beradaptasi dengan lingkungan yang baru dan untuk membatasi pengaruh lingkungan dalam percobaan. Mencit dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Pada masing-masing mencit

diberikan perlakuan secara oral sebanyak satu kali dalam sehari dengan konsentrasi yang berbeda-beda untuk setiap kelompok. Waktu pemberian ekstrak dilakukan pada pagi hari pukul 10.00 WIB. Pakan yang diberikan pada mencit adalah pakan standar.

3.3.3. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih

Metode maserasi digunakan pada penelitian ini untuk mendapatkan ekstrak etanol daun sirih. Maserasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut pada suhu ruang untuk memungkinkan terjadinya difusi senyawa metabolit sekunder dari jaringan tanaman ke dalam pelarut sesuai dengan tingkat kepolarannya (Ansel, 1989). Daun dipetik dari tangkai setelah daun ketiga mulai dari bagian pucuk, dan memiliki berwarna hijau tua yang segar. Hal tersebut bertujuan untuk mendapatkan kandungan senyawa metabolit sekunder dengan kadar yang optimal karena daun muda pada bagian ujung pucuk dan daun yang telah layu serta menguning memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang rendah (Evita dkk., 2022). Daun sirih diambil di Desa Rama Nirwana (RN 6), Kecamatan Seputih Raman, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung, Indonesia.

Daun sirih sebanyak 3 kg dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa debu dan kotoran serta mencegah terjadinya kontaminasi, kemudian dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari selama 4-5 hari. Setelah kering, daun sirih dihaluskan dengan menggunakan mesin penggiling lalu diayak untuk memperoleh serbuk yang halus. Setelah didapatkan bubuk daun sirih yang halus, bubuk tersebut dimaserasi dengan etanol 96% dan disaring lagi menggunakan pompa vakum sehingga akan diperoleh filtrat. Kemudian filtrat tersebut dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* sampai terbentuk ekstrak kental (Sholihin dan Ducha, 2024).

3.3.4. Perhitungan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirih

Setiap kelompok perlakuan diberi ekstrak etanol daun sirih dengan dosis yang berbeda sesuai dengan rancangan penelitian. Pemberian volume maksimum ekstrak etanol daun sirih peroral yaitu 1% berat badan (Purwanti, 2019). Perhitungan pemberian ekstrak etanol daun sirih setiap kelompok perlakuan adalah sebagai berikut.

1. Dosis 300 mg/gBB (P1)

$$\frac{300}{1000 \text{ g}} \times \frac{x}{30 \text{ g}}$$

$$x = 9 \text{ mg/30gBB}$$

2. Dosis 400 mg/gBB (P2)

$$\frac{400}{1000 \text{ g}} \times \frac{x}{30 \text{ g}}$$

$$x = 12 \text{ mg/30gBB}$$

3. Dosis 500 mg/gBB (P3)

$$\frac{500}{1000 \text{ g}} \times \frac{x}{30 \text{ g}}$$

$$x = 15 \text{ mg/30gBB}$$

3.3.5. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor dosis yang terdiri dari 4 perlakuan dan setiap perlakuan diulang sebanyak 5 kali sehingga terdapat 20 perlakuan. Pemberian ekstrak daun sirih pada masing-masing kelompok perlakuan dengan cara dicekok (oral) dengan bantuan spluit atau sonde yang pada ujungnya tumpul dan diberi pipa karet kecil (Zakri dkk., 2023).

Perlakuan pencekakan ini dilakukan secara rutin setiap hari pukul 10.00 WIB selama 14 hari. Setelah 14 hari, dilakukan pembedahan untuk mengambil uterus kemudian uterus tersebut diawetkan menggunakan

alkohol dan dibawa ke Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung untuk dilakukan pembuatan preparat histopatologi endometrium. Dosis ekstrak daun sirih yang akan diberikan untuk perlakuan pada mencit betina ditunjukkan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Perlakuan dan Dosis Perlakuan

Perlakuan (P)	Pemberian Dosis	Keterangan
K	0,3 mL akuades	Kontrol
P1	9 mg/30gBB ekstrak etanol daun sirih + 0,3 ml akuades	Perlakuan 1
P2	12 mg/30gBB ekstrak etanol daun sirih + 0,3 ml akuades	Perlakuan 2
P3	15 mg/30gBB ekstrak etanol daun sirih + 0,3 ml akuades	Perlakuan 3

3.3.6. Pengambilan Organ Uterus

Prosedur pembedahan dilakukan untuk mengambil organ uterus pada mencit betina dengan mengikuti tahapan yang steril dan sesuai etika hewan laboratorium. Mencit dibius dengan menggunakan kloroform, setelah mencit tidak sadar, tubuhnya diletakkan terlentang di atas papan bedah steril, dan area abdomen dibersihkan dengan kapas alkohol. Selanjutnya, dilakukan insisi secara longitudinal sepanjang kurang lebih 1–2 cm pada bagian perut bawah menggunakan pisau bedah steril. Setelah membuka jaringan otot perut dengan hati-hati, uterus dikenali sebagai organ berbentuk huruf Y yang terletak di bawah ginjal. Uterus diangkat secara perlahan menggunakan pinset dan dipotong pada pangkalnya dengan gunting bedah. Organ yang telah diambil dimasukkan ke dalam wadah berisi larutan larutan fisiologis (Aisyah dkk., 2023).

3.3.7. Pembuatan Preparat Histopatologi

Pembuatan preparat histopatologi uterus dilakukan di Laboratorium patologi BPPV (Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner) Regional III Bandar Lampung. Tahap-tahap pembuatan preparat histopatologis adalah sebagai berikut (Keirnan, 2001):

1. *Trimming*

Spesimen berupa potongan uterus yang sudah dipilih lalu difiksasi menggunakan *Neutral Buffered Formalin* 10%. Organ kemudian dipotong dengan ukuran 2-4 mm dan dimasukkan ke dalam *cassette* jaringan dan dicuci dengan air mengalir.

2. Dehidrasi

Potongan jaringan didehidrasi secara berturut-turut menggunakan alkohol 70%, 80%, 90%, alkohol absolut I, dan alkohol absolut II selama dua jam pada masing-masing konsentrasi alkohol. Langkah selanjutnya yaitu *clearing* atau proses mengeluarkan alkohol dari dalam jaringan dengan cara merendam jaringan dalam senyawa *xylene*.

3. *Embedding* (Pembenaman)

Setelah proses *clearing*, jaringan harus melalui proses *embedding* atau *impregnation* untuk mengeluarkan *clearing agent* dari dalam jaringan. Pada proses *embedding*, jaringan diinfiltrasi oleh senyawa parafin sehingga jaringan yang awalnya lunak menjadi keras dan mudah dipotong menggunakan mikrotom.

4. *Cutting* (Pemotongan)

Jaringan selanjutnya melalui proses *blocking* sehingga jaringan tercetak di dalam blok-blok parafin dan disimpan dalam lemari es selama 24 jam. Blok-blok parafin kemudian dipotong (*cutting*) menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 mikron. Hasil pemotongan diapungkan dalam air hangat bersuhu 60°C untuk menghindari terbentuknya lipatan.

5. *Staining* (Pewarnaan)

Sediaan diletakkan pada gelas objek untuk dilakukan pewarnaan Harris Haematoksin-Eosin dengan cara memasukkan slide secara bertahap ke dalam *xylol*, alkohol, akuades, *haematoxin*, *acid alcohol*, dan eosin.

6. *Mounting* (Penutupan)

Setelah pewarnaan selesai, *slide* ditempatkan di atas *tissue* yang kering pada tempat datar, kemudian ditetesi dengan *kanada balsam* dan ditutup dengan *cover glass*.

3.3.8. Pemeriksaan Preparat Histopatologi

Pemeriksaan struktur histopatologi endometrium dilakukan terhadap preparat awetan yang diwarnai dengan haematoxin eosin. Pengamatan *slide* preparat histopatologi dilakukan di bawah mikroskop binokuler dengan pembesaran 100x. Pemeriksaan dilakukan di Laboratorium Zoologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Pengukuran menggunakan mikroskop yang dilengkapi mikrometer.

3.3.9. Parameter Pengamatan

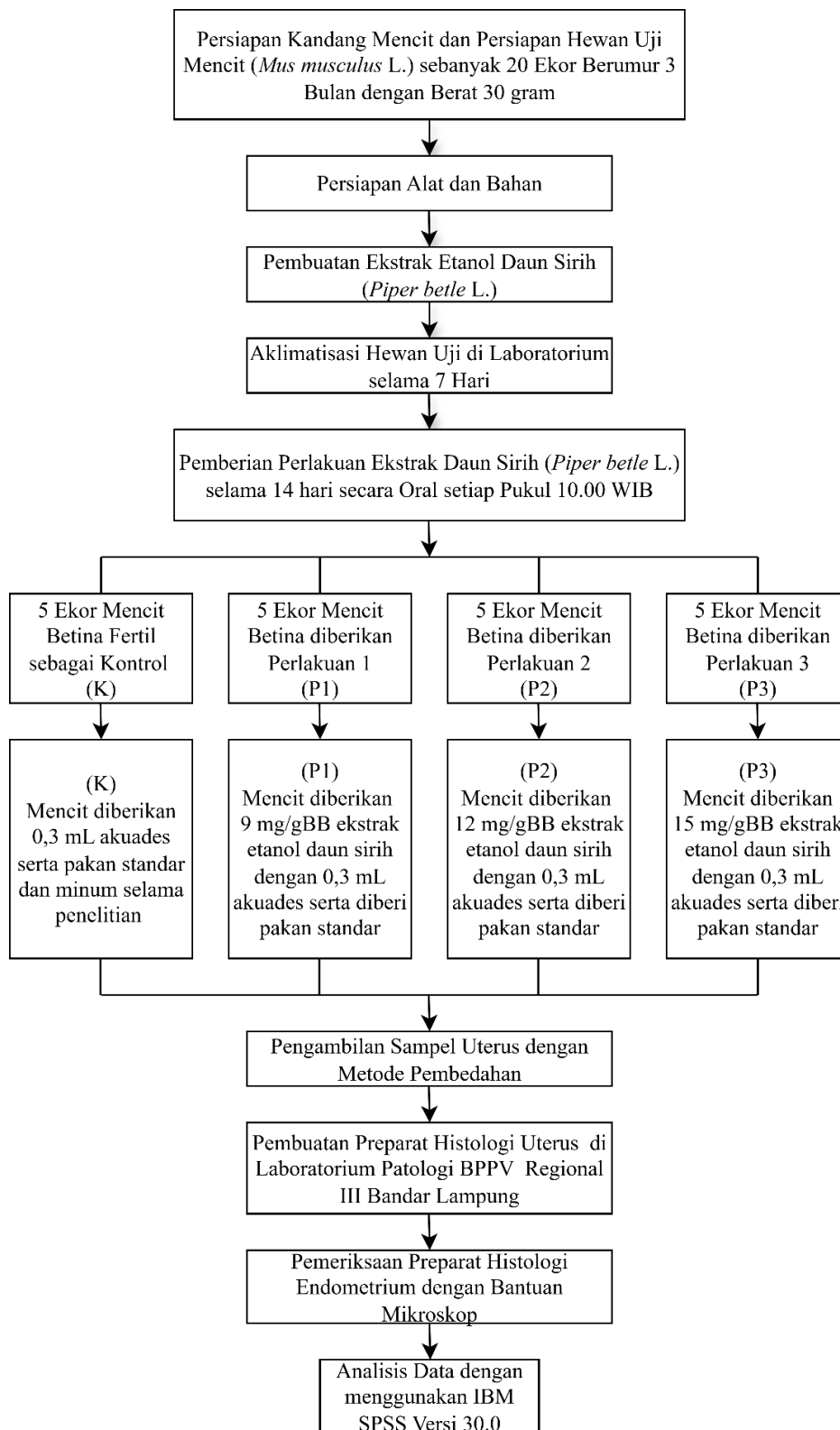
Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah ketebalan endometrium mencit betina setelah diberi ekstrak daun sirih. Ketebalan endometrium diukur dari permukaan lumen hingga batas akhir lapisan endometrium menggunakan mikrometer okuler.

3.3.10 Pengolahan Data

Variabel pengamatan yang diamati pada penelitian ini adalah ketebalan endometrium mencit betina pada fase estrus. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dapat dilakukan analisis statistik pada parameter dengan menggunakan IBM SPSS Versi 30.0 dengan menggunakan uji Kruskal Wallis.

3.3.11. Diagram Alir Penelitian

Diagram alir penelitian dapat dilihat pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Diagram Alir Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Simpulan yang diperoleh pada penelitian pemberian ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) mencit betina (*Mus musculus* L.) adalah:

1. Belum mampu mempengaruhi ketebalan endometrium mencit pada fase estrus.
2. Belum diketahui dosis yang efektif terhadap penurunan ketebalan endometrium.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang dapat diajukan adalah:

1. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan variasi dosis dan memperpanjang lama waktu pemberian ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.), sehingga efek biologis senyawa aktif terhadap ketebalan endometrium dapat diamati secara lebih optimal dan memungkinkan munculnya perbedaan yang signifikan secara statistik.
2. Disarankan pada penelitian selanjutnya untuk menambahkan parameter pendukung, seperti pengukuran kadar hormon estrogen untuk memperkuat interpretasi mekanisme kerja ekstrak etanol daun sirih terhadap perubahan ketebalan endometrium.

DAFTAR PUSTAKA

- Adani, M, F., Sitasiwi, A, J., & Sri, I. 2017. Efek Antifertilitas Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Pelarut Air terhadap Bobot Anak Mencit (*Mus musculus* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 2 (1): 11-17.
- Adnan.1992. Pengaruh Mangostin terhadap Fungsi Reproduksi Mencit. (*Mus musculus*) Swiss Webster Betina. *Tesis Pascasarjana Biologi*. ITB.
- Aisyah, S., Gumelar, A, S., Maulana, M, S., & Amelia, H, T. 2023. Identifikasi Karakteristik Hewan Vertebrata Mamalia Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Berdasarkan Morfologi dan Anatominya. *Prosiding Seminar Nasional*. 484-493.
- Ansel, H, C. 1989. *Pengantar Bentuk Sedimen Farmasi*. Edisi ke-4. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Alfiyanti, A., Sitasiwi, A, J., & Mardiaty, S, M. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* A.) terhadap Berat Uterus dan Tebal Endometrium Mencit (*Mus musculus* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 82-89.
- Ara, A. S., & Mangunsong, S. 2014. Efek Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Penurunan Kadar Serum Asam Urat dan Ureum Pada Tikus Putih. *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 14(1): 93–99.
- Azizah, L, N., Juliana, & Sihombing, S. 2023. Hubungan Pengetahuan dan Perilaku Tentang Vulva Hygiene Terhadap Kejadian Keputihan. *Midwifery: Jurnal Kebidanan dan Sains*. 1(2): 35–40.
- Chauhan, S., Aishwarya, J., Singh, A., & Tiwari, A. 2016. A review: Nutraceuticals properties of *Piper betle*. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*. 4(2). 28-41.
- Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. 2009. Dietary Phenolics: Chemistry, Bioavailability and Effects on Health. *Natural Product Reports*. 26(8): 1001–1043.
- Dalimartha, S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 5*. Pustaka Buana: Jakarta.

- Evita, D., Nofita., & Ulfa, A, M. 2022. Efektivitas Ekstrak Etil Asetat Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Farmasi Malahayati*. 5(1): 10-21.
- Fernandez, M. A., Wiratmini, N, I ., & Ermayanti, N, G. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ekor Naga (*Rhaphidophora pinnata* Schott) terhadap Perkembangan Uterus Mencit Betina. *Jurnal Biologi*. 19(2): 74-78
- Fitriyah, A., & Wibowo, A. 2020. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol *Curcuma longa* terhadap Ketebalan Endometrium Mencit (*Mus musculus*). *Tesis*. Universitas Gadjah Mada.
- Gartner, L., P., & Hiatt, J., L. 1997. *Color textbook of histology 2nd ed: Female reproductive system*. Philadelphia: Saunders Company.
- Gruneberg, H. 1943. *The Genetics of the Mouse*. London: Cambridge University Press.
- Guyer, C., Rajesh, S., & Connor, M, E.2020. *Anatomy and Physiology of the Uterus*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Hardjopranjoto, S. 1995. *Ilmu Kemajiran Ternak*. Bab 2 hal: 19-29. Surabaya: Airlangga University Press.
- Harlita, Probosari, R, M, & Ariyanto, J. 2015. Perubahan Histologis Uterus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar: Aktifitas Antifertilitas Ekstrak Kulit Biji Mete (*Anacardium occidentale* L.). *Bioedukasi*. 8(2): 1-4.
- Hasti. 2016. *Pengaruh Penggunaan Alat Kontrasepsi Suntik Terhadap Menstruasi Di Wilayah Kerja Puskesmas Kotabu Kabupaten Muna Bulan Juli Tahun 2016*.
- Haryanto, Pertiwi, W., dan Ihsani, N. 2019. Siklus Estrus Mencit Betina Virgin (*Mus musculus*) Strain BALB/c setelah Terpapar Berbagai Jenis Sound. *Journal of Science, Technology and Enterpreneurship*. 1(2): 127-133.
- Hewitt, S. C., & Korach, K. S. 2018. Estrogen Receptors: New Directions in the New Millennium. *Endocrine Reviews*. 39(5): 664–675.
- Hossain, F., Anwar, M., Akhtar, S., & Numan, S, M. 2017. Uses Impact of Betle Leaf (*Piper betle* L.) on Public Health. *Science Journal of Public Health*, 5(6). 408-10.
- Keirnan, J. 2001. *Histopatological and Histochemical Methods*, 3rd Ed. Toronto. Arnold Pub: 330-354.
- Koensomardiyah, 2010. *Khasiat dan Manfaat Daun Sirih*. Sentra Informasi IPTEK, Jakarta.

- Lang, R., Herbert, R., & Willson, C. 2024. *Anatomy and histology of the normal rodent uterus*. Division of Translational Toxicology, National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services.
- Liu, K. E., Hartman, M., Hartman, A., Luo, Z., & Maheshwari, A. 2018. The Impact of Endometrial Thickness on IVF Outcomes in Women Undergoing Fresh Embryo Transfer. *Human Reproduction*. 33(10): 1883–1891.
- Meehan, A, P. 1984. *Rats and Mice, Their Biology and Control*. East Grinstead: Rentokil Limited.
- Muliani, H. 2011. Pertumbuhan Mencit (*Mus musculus* L.) setelah Pemberian Biji Salak Pagar (*Jatropha curcas* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 19 (1): 44-54.
- Nalbandov, R. 1990. *Fisiologi Reproduksi pada Mamalia dan Unggas. Fisiologi Komparatif pada Hewan Domestikasi dan Laboratorium serta Manusia* (diterjemahkan oleh Sunaryo). Jakarta: UI Press.
- Oktavia, S., Ifora., & Aprianto. 2020. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Naga (*Epipremium pinnatum* L.) pada Mencit Betina. *Jurnal Farmasi Higea*. 12(1): 1-8).
- Ozdemir, D., & Atalar, O. (2009). Observations on the Morphology of the Uterus of the Porcupine (*Hystrix cristata*). *Veterinarski Arhiv*. 79(4): 379–384.
- Partodihardjo, S. 1988. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Jakarta: Mutiara Sumber Widya.
- Prakash, B., Singh, P., Kedia, A., & Dubey, N. K. 2015. Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of *Piper betle* L. Essential Oil. *Journal of Food Science and Technology*. 52(6): 3857–3863
- Pratiwi, N, P, R., & Muderawan, I, W. 2016. Analisis Kandungan Kimia Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan GC-MS. *Prosiding Seminar Nasional MIPA*.
- Purwanti, E. 2019. Efek Ekstrak Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucida*) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal dan Kadar Glukosa darah Pada Mencit Jantan yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Rang, H.P., Ritter, J.M., & Henderson, G. 2019. *Rang and Dale's Pharmacology*. Edisi ke-9. London: Elsevier.
- Ratnasooria, W, D., & Premakumara, G. 1997. *Piper betle* Leaves Reversibly Inhibits Fertility of Male Rats. *Vidyodaya Journal of Science*. (7): 15-21.
- Rejeki, P, S., Putri, E, C., & Prasetya, R, E. 2018. *Ovarivasektomi Pada Tikus dan Mencit*. Airlangga University Press. Surabaya.

- Ruiz-Alonso, M., Blesa, D., & Simón, C. 2012. The Genomics of the Human Endometrium. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1931-1942.
- Salehi, B., Zakaria, Z, A., & Gyawali, R. 2019. Piper Spesies a Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications. *Molecules*. 24(7): 1364.
- Samudra, R, P., 2016. Substitusi Onggok dan Ampas Tahu Fermentasi Terhadap Konsumsi Pakan, Produksi Telur dan Konversi Pakan Burung Puyuh (*Coturnix coturnix japonica*). *Skripsi*. Universitas Airlangga.
- Sarjani T, M., Mawardi, Pandia E, S., &Wulandari, D. 2017. Identifikasi Morfologi dan Anatomi Tipe Stomata Famili *Peperaceae* di Kota Langsa. *Jurnal IPA dan Pembelajaran IPA (JIPI)*. 1(2): 182–191.
- Saruhan, B, G., Ozbag, D., & Nurullah, O. 2006. Comparative Effects of Ovariectomy and Flutamid on Body-Uterus Weight and Uterine Histology in the Ovariectomized Rat Model. *Journal of the Faculty of Medicine*. 13(4): 221-226.
- Setyowati, E.A.W., Ariani., Ashadi, B., Mulyani, A., & Hidayat. 2015. *Aktivitas Antifertilitas Kontrasepsi dari Kulit Durian (Durio zibethinus Murr.) Varietas Petruk*. Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan Fmipa Fkip Uns, Surakarta.
- Shah, K, S., & Jhade, D, N. 2018. Evaluation of Antifertility Potential of *Piper betle* (Petiole) on Female Wistar Rats “Rising Approaches of Herbal Contraception”. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 1 (5): 97-102.
- Sholihin, A, M, N., & Ducha, N. 2024. Pengaruh Kemangi (*Ocimum basilicum*) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) yang Diberikan Paparan Asap Rokok. *Lentera Biologi*. 13 (2): 289-299.
- Sitasiwi, A. J. 2008. Hubungan Kadar Hormon Estradiol-17 β dan Tebal Endometrium Uterus Mencit (*Mus musculus* L.) Selama Satu Siklus Estrus. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. Universitas Diponegoro.
- Suckow, M.A., Danneman, P., & Brayton, C. 2001. *The Laboratory Mouse*. Florida: CRC Press.
- Susetyarini, R, E. 2009. Efek Senyawa Aktif Daun Beluntas Terhadap Kadar Testosteron Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan. *GAMMA*. 5 (1): 21–27.
- Tiro, B., Tirajoh, S., Beding, P., dan Baliarti, E. 2020. Siklus Estrus dan Profil Hormon Reproduksi Induk Sapi Peranakan Ongole dan Silangan Simmental Peranakan Ongole. *Jurnal Pertanian Agros*. 22(2): 105-112.

- Tjitrosoepomo. 1993. *Taksonomi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Widyawaty, E, D., Hendarto, H., & Widjati. 2018. Pengaruh Meniran Dosis Bertingkat terhadap Ekspresi IGF-1 dan Ketebalan Endometrium pada Mencit Betina Endometriosis. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 20(1): 1-13.
- Yuwanta, T. 2010. *Telur dan Kualitas Telur*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Zakri, D, P., Hasanah, H., Salsabila, V., Ahda, Y., & Yusni, A. 2023. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Spermatogenesis *Mus musculus*. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*. 10 (10): 2973-2977.
- Zhao, J., Zhang, Q., & Li, Y. 2012. The Effect of Endometrial Thickness and Pattern Measured by Ultrasonography on Pregnancy Outcomes During IVF-ET Cycles. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 10(1): 2-6.
- Zhao, Y., Zheng, H., Xu, Y., & Lin, N. 2019. Estrogenic Effect of the Extract of QingYan Formula (QYF) on Reproductive Tissues in Immature Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 1-8.