

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP
MORFOLOGI SEL EPITEL ULAS VAGINA DAN DURASI ESTRUS
MENCIT BETINA (*Mus musculus* L.)**

(Skripsi)

Oleh

**VANIA YOSINKA PUTRI
NPM 2217021125**



**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

ABSTRAK

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP MORFOLOGI SEL EPITEL ULAS VAGINA DAN DURASI ESTRUS MENCIT BETINA (*Mus musculus* L.)

Oleh
Vania Yosinka Putri

Sistem reproduksi betina merupakan sistem biologis yang berperan dalam proses reproduksi melalui pengaturan organ reproduksi dan hormon reproduksi yang bekerja secara terkoordinasi. Aktivitas sistem reproduksi betina berlangsung secara siklik dan pada mencit ditunjukkan melalui siklus estrus, yang terdiri atas fase proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus. Siklus estrus ditandai oleh perubahan morfologi sel epitel vagina serta perbedaan durasi pada setiap fase, terutama fase proestrus dan estrus, yang dipengaruhi oleh fluktuasi hormon estrogen. Daun sirih (*Piper betle* L.) diketahui mengandung senyawa bioaktif, seperti flavonoid dan saponin, yang berpotensi memengaruhi regulasi hormon estrogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirih terhadap morfologi sel epitel ulas vagina pada fase proestrus dan estrus serta terhadap durasi fase proestrus dan estrus pada mencit betina (*Mus musculus* L.). Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat perlakuan, yaitu kontrol (akuades) dan pemberian ekstrak etanol daun sirih dosis 300 mg/g BB, 400 mg/g BB, dan 500 mg/g BB diberikan secara oral, setelah itu dilakukan ulas vagina menggunakan pewarnaan Giemsa selama 14 hari. Parameter yang diamati meliputi morfologi sel epitel vagina serta durasi fase proestrus dan estrus. Data dianalisis menggunakan uji ANOVA dan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirih tidak menyebabkan perubahan yang signifikan terhadap morfologi sel epitel vagina pada fase proestrus dan estrus, serta tidak berpengaruh nyata terhadap durasi fase proestrus dan estrus mencit betina ($p > 0,05$). Dengan demikian, pada dosis dan durasi perlakuan penelitian ini, ekstrak etanol daun sirih belum menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap perubahan sitologi vagina maupun durasi fase proestrus dan estrus mencit betina.

Kata kunci : sistem reproduksi betina, siklus estrus, ulas vagina, sel epitel vagina, *Piper betle* L.

ABSTRACT

THE EFFECT OF ETHANOLIC BETEL LEAF EXTRACT (*Piper betle* L.) ON VAGINAL EPITHELIAL CELL MORPHOLOGY AND ESTRUS DURATION IN FEMALE MICE (*Mus musculus* L.)

By
Vania Yosinka Putri

The female reproductive system is a biological system that plays an essential role in the reproductive process through the coordinated regulation of reproductive organs and hormones. Reproductive activity in female mammals occurs cyclically and, in mice, is represented by the estrous cycle, which consists of the proestrus, estrus, metestrus, and diestrus phases. The estrous cycle is characterized by changes in vaginal epithelial cell morphology and differences in the duration of each phase, particularly the proestrus and estrus phases, which are influenced by fluctuations in estrogen levels. Betel leaf (*Piper betle* L.) is known to contain bioactive compounds, such as flavonoids and saponins, which have the potential to affect estrogen regulation. This study aimed to determine the effect of ethanolic betel leaf extract on vaginal epithelial cell morphology during the proestrus and estrus phases, as well as on the duration of the proestrus and estrus phases in female mice (*Mus musculus* L.). The study employed a Completely Randomized Design with four treatments: a control group (distilled water) and ethanolic betel leaf extract administered orally at doses of 300 mg/g BW, 400 mg/g BW, and 500 mg/g BW for 14 days, followed by vaginal smear examination using Giemsa staining. Observed parameters included vaginal epithelial cell morphology and the duration of the proestrus and estrus phases. Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) followed by Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at a 95% confidence level. The results showed that the administration of ethanolic betel leaf extract did not cause significant changes in vaginal epithelial cell morphology during the proestrus and estrus phases and did not significantly affect the duration of the proestrus and estrus phases in female mice ($p > 0.05$). Therefore, at the doses and duration applied in this study, ethanolic betel leaf extract did not demonstrate a significant effect on vaginal cytological changes or the duration of the proestrus and estrus phases in female mice.

Keywords: female reproductive system, estrous cycle, vaginal smear, vaginal epithelial cells, *Piper betle* L.

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP
MORFOLOGI SEL EPITEL ULAS VAGINA DAN DURASI ESTRUS
MENCIT BETINA (*Mus musculus* L.)**

**Oleh
Vania Yosinka Putri**

**(Skripsi)
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

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

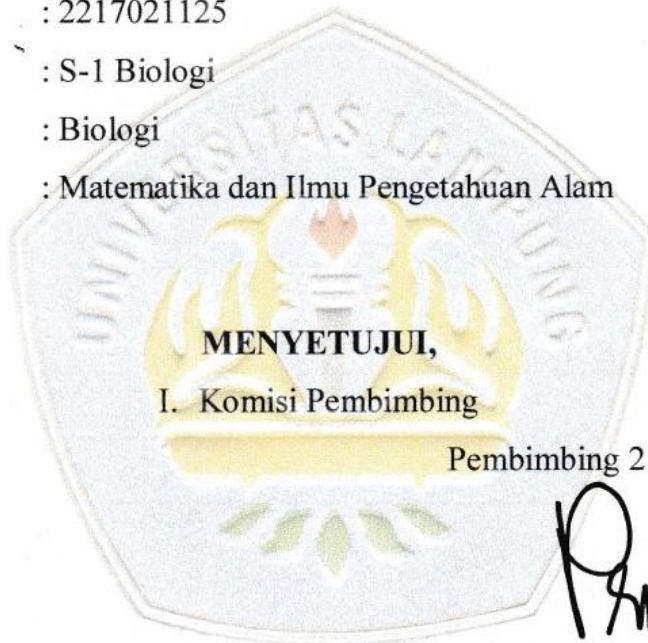


**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2026**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) TERHADAP STRUKTUR SEL EPITEL ULAS VAGINA DAN DURASI ESTRUS MENCIT BETINA (*Mus musculus* L.)

Nama Mahasiswa : Vania Yosinka Putri
NPM : 2217021125
Program Studi : S-1 Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



MENYETUJUI,
I. Komisi Pembimbing

Pembimbing 1

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

Pembimbing 2

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

II. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

Dr. Jani Master, 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 : Vania Yosinka Putri
NPM : 2217021125
Program Studi : S1 Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul:

“Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Struktur Sel Epitel Ulas Vagina Dan Durasi Estrus Mencit Betina (*Mus musculus* L.)”

Apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini merupakan hasil karya saya sendiri. Segala sumber yang digunakan telah dicantumkan sesuai 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, 6 Maret 2026

Yang Menyatakan,



Vania Yosinka Putri

NPM. 2217021125

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Karawang pada tanggal 29 November 2004. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara oleh pasangan Bapak Jemakir dan Ibu Nova Krista Kurnia Pasaribu. Penulis beralamat di Perumahan Bumi Neikarta 2 No.229, Kelurahan Danurejo, Kecamatan Mertoyudan, Kabupaten Magelang, Provinsi Jawa Tengah. Penulis melaksanakan pendidikan dasar di SDN Bengle 2 Karawang dan menyelesaikan pendidikan dasar di SDN Karang Asih 03

Cikarang Utara pada tahun 2016, menyelesaikan pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 1 Cikarang Utara pada tahun 2019, dan pendidikan menengah atas di SMA El Shadai Magelang pada tahun 2022.

Pada tahun 2022, penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menempuh pendidikan di perguruan tinggi, penulis aktif mengikuti kegiatan akademik dan organisasi kemahasiswaan, antara lain sebagai Anggota Bidang Komunikasi, Informasi, dan Hubungan Masyarakat pada Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila tahun 2022-2023 dan sebagai Anggota Divisi Pemberdaya Sumberdaya Manusia pada Paduan Suara Mahasiswa Universitas Lampung tahun 2023-2026. Serta melakukan pelayanan rohani di Organisasi Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) Kristen dan Persekutuan Oikumene Mahasiswa MIPA (POMMIPA) selama aktif berkuliah 2022-2025.

Sebagai bagian dari pemenuhan kurikulum, penulis telah melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Pusat Penelitian Teh dan Kina (PPTK) Kab. Bandung pada Desember 2024 - Januari 2025 dengan judul “**Evaluasi Formula Dan Dosis Pupuk Anorganik Cair Terhadap Pertumbuhan Tunas, *Plucking Point*, Dan Produksi Tanaman Teh (*Camellia sinensis* L.) Pada Tahun Pangkas 4 Di Pusat Penelitian Teh Dan Kina (PPTK) Gambung, Kab. Bandung**”. Selain itu, penulis juga melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Rawa Laut, Enggal, Kota Bandar Lampung pada bulan Juli - Agustus 2025 sebagai bentuk pengabdian kepada masyarakat. Penulis juga melaksanakan penelitian skripsi di Laboratorium Zoologi FMIPA Unila pada periode September - November 2025.

MOTTO

"Karena TUHANlah yang memberikan hikmat, dari mulut-Nya datang pengetahuan dan kepandaian."

(Amsal 2:6)

"Orang-orang yang menabur dengan mencururkan air mata, akan menuai dengan bersorak-sorai."

(Mazmur 126:5)

"Every step is progress, even if slow."

"Setiap langkah adalah kemajuan, meskipun lambat."

(Day 6-Marathon)

"The deeper the night, the brighter the star."

"Semakin dalam malam (masa sulit), semakin terang bintang bersinar."

(BTS-Mikrokosmos)

"The ones that love us never really leave us."

"Orang yang mencintai kita tidak pernah benar-benar meninggalkan kita."

(Sirius Black-Harry Potter and the Prisoner of Azkaban)

PERSEMBAHAN

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yesus Kristus atas segala berkat, bimbingan, dan kekuatan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Saya persembahkan karya ini untuk...

Kedua orang tua tercinta, Bapak Jemakir dan Ibu Nova Krista Kurnia Pasaribu, yang selalu menjadi sumber doa, dukungan, motivasi, dan kasih yang tak tergantikan. Terima kasih atas teladan iman, kesabaran, dan kerja keras yang selalu ditunjukkan, sehingga saya dapat menapaki setiap tantangan dengan percaya diri dan keyakinan pada rencana Tuhan.

Saudara kandung saya, Evan Aryaputra, yang selalu menjadi sumber inspirasi dan motivasi dalam setiap langkah perjalanan hidup dan kuliah. Terima kasih atas kasih, perhatian, dan dukungan, yang selalu menguatkan hati penulis di masa-masa sulit selama 3,7 tahun kuliah.

Keluarga besar dan saudara, terima kasih atas doa, dorongan, dan cinta yang membuat penulis tetap semangat, terutama ketika menghadapi masa-masa sulit dalam menyelesaikan penelitian ini.

Para dosen dan pembimbing, yang dengan sabar membimbing, mengarahkan, serta memberikan ilmu, arahan, dan kritik yang membangun. Bimbingan dan pengalaman yang diberikan menjadi bekal berharga bagi penulis, tidak hanya dalam menyelesaikan skripsi, tetapi juga dalam menapaki langkah hidup ke depan.

Tak lupa, penulis persembahkan karya ini kepada teman-teman, sahabat, dan almamater yang telah memberi dukungan moral, motivasi, dan semangat selama perjalanan kuliah. Setiap doa, nasihat, dan kehadiran kalian menjadi kekuatan yang menyertai setiap proses belajar dan penelitian penulis.

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas kasih, anugerah, dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Morfologi Sel Epitel Ulas Vagina dan Durasi Estrus Mencit Betina (*Mus musculus* L.)”**.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains serta sebagai bentuk penerapan ilmu pengetahuan yang telah diperoleh selama masa perkuliahan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki keterbatasan dan kekurangan. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih 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., 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. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M. Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Pembimbing I yang telah dengan sabar memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi selama proses penyusunan skripsi.

6. Ibu Primasari Pertiwi, S.Pd., M.Si., selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan saran, masukan, dan koreksi yang sangat berarti selama proses penyusunan skripsi.
7. Prof. Dr. Hendri Busman, M. Biomed., selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini.
8. Seluruh dosen, staf, dan karyawan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung atas bantuan dan pelayanan yang diberikan selama penulis menempuh pendidikan.
9. Bapak tercinta, Jemakir yang senantiasa menjadi sosok panutan, pelindung, dan penyemangat dalam setiap langkah perjalanan hidup penulis. Terima kasih atas doa yang tak pernah terputus, kerja keras yang tanpa lelah, serta dukungan moral maupun material yang selalu diberikan, sehingga saya mampu menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Kesabaran, keteguhan, dan kasih sayang bapak menjadi kekuatan terbesar bagi saya untuk terus berjuang dan tidak menyerah dalam meraih cita-cita.
10. Mamah tercinta, Nova Krista Kurnia Pasaribu atas segala kasih sayang, doa, kesabaran, dan perhatian yang tidak pernah henti diberikan kepada penulis. Mamah adalah sumber kekuatan, penghiburan, dan semangat dalam setiap proses yang penulis jalani, terutama di saat lelah dan hampir menyerah. Dukungan, nasihat, serta ketulusan cinta Mamah menjadi alasan utama saya mampu bertahan dan menyelesaikan skripsi ini.
11. Saudara kandung, Evan Aryaputra yang telah memberikan dukungan, doa, serta semangat selama proses penyusunan skripsi ini. Kehadiran, perhatian, dan kebersamaan yang diberikan menjadi penyemangat tersendiri bagi penulis dalam menghadapi setiap tantangan. Dukungan baik secara langsung maupun tidak langsung, turut berperan dalam terselesaikannya skripsi ini dengan baik.
12. Keluarga besar saya yang selama perkuliahan, penelitian dan penyusunan skripsi ini berlangsung selalu memberikan doa, dukungan, dan perhatian kepada saya.

13. Teman terkasih, yaitu Joseph Dedek Parhusip, atas doa, kesabaran, perhatian, dan dukungan kepada saya selama proses penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
14. Wayan Mitri Aprilia Sari selaku teman perjuangan penulis selama aktif berkuliah dan penelitian yang telah menemani, membantu, dan memberikan semangat selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini berlangsung.
15. Muhammad Rizki selaku teman penelitian atas kerja sama, bantuan, dukungan selama pelaksanaan penelitian, dan selama proses penyusunan skripsi ini berlangsung.
16. Rekan-rekan PES, yaitu Ammara, Elce, Kimi, Liza, Lulu, Marcesa, atas kebersamaan, dan dukungan yang diberikan selama berkuliah hingga proses penyusunan skripsi ini berlangsung.
17. Naurah dan Anggi, selaku sahabat SMP atas persahabatan, dukungan yang terus terjalin hingga saat ini serta tempat saya untuk berkeluh kesah selama ini.
18. Miranda dan Shinta, selaku sahabat atas dukungan, perhatian, dan semangat yang diberikan.
19. Herlinda, Debora, dan Vany, selaku sahabat SMA saya yang memberikan dukungan dan semangat kepada saya.
20. Rekan penelitian Zoologi, yaitu Dedi, Dita, Doni, Israhul, Salsa, Suci, dan Yulita atas kerja sama dan kebersamaan selama kegiatan penelitian.
21. Gamboeng Geulis, yaitu Galuh, Miranda, Nadzifa, Nur Ayu, Rena, dan Tita yang selalu memberikan dukungan emosional dan tawa canda selama proses penyusunan skripsi ini.
22. HIDTS dan Pengurus PSM Unila yang selalu memberikan dukungan, doa, serta menemani penulis selama masa perkuliahan baik secara langsung ataupun tidak langsung.
23. Gracia, Enzel dan Novita, selaku sahabat Kristiani Kelas C atas kebersamaan, doa, dan dukungan rohani yang diberikan kepada saya selama masa perkuliahan dan penulisan skripsi.

24. Teman-teman KKN Rawa Laut, Enggal yang selalu memberikan dukungan emosional, kebersamaan, semangat, serta canda tawa kepada saya selama penyusunan proposal skripsi ini di sela-sela waktu KKN berlangsung.
25. Teman-teman *Creative Ministry* GBI Rayon 17 selaku teman rohani saya yang telah memberikan doa, dukungan, semangat, dan berkat kepada saya baik jasmani maupun rohani selama masa perkuliahan ini.
26. Teman-teman seperjuangan Biologi Angkatan 2022 atas kebersamaan, kerja sama, dan dukungan selama masa studi.
27. Kepada diri sendiri karena telah berjuang, bertahan, dan menyelesaikan seluruh proses penyelesaian perkuliahan ini hingga tercapainya gelar Sarjana Sains.

Kiranya Tuhan Yesus Kristus membalas setiap kebaikan dengan berkat yang melimpah. 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. Amin.

Bandar Lampung, 6 Maret 2026

Penulis

Vania Yosinka Putri

DAFTAR ISI

COVER	i
ABSTRAK	ii
HALAMAN PENGESAHAN	v
MENGESAHKAN	vi
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vii
RIWAYAT HIDUP	viii
MOTTO	x
PERSEMBAHAN	xi
SANWACANA	xii
DAFTAR ISI	xvi
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Kerangka Teoritis	3
1.4 Hipotesis Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tanaman Sirih (<i>Piper betle</i> L.).....	6
2.1.1 Klasifikasi Sirih.....	6
2.1.2 Kandungan dan Manfaat Tanaman Sirih.....	8
2.2 Mencit.....	9
2.2.1 Klasifikasi Mencit (<i>Mus musculus</i> L.).....	9
2.2.2 Sistem Reproduksi Mencit	11
2.3 Siklus Estrus	13
2.4 Metode Apus Vagina (<i>Vaginal smear</i>).....	17

III. METODE PENELITIAN.....	19
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2 Alat dan Bahan	19
3.2.1 Alat	19
3.2.2 Bahan.....	19
3.3 Metode Penelitian.....	20
3.3.1 Pemeliharaan Mencit.....	20
3.3.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih	20
3.3.3 Perhitungan Pemberian Perlakuan Ekstrak Etanol Daun Sirih.....	21
3.3.4 Rancangan Penelitian	21
3.3.4 Pengambilan Sampel Sel Vagina.....	22
3.3.5 Parameter Pengamatan	22
3.3.6 Analisis Data	23
3.3.7 Diagram Alir Penelitian.....	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1 Morfologi Sel Epitel Fase Proestrus.....	25
4.2 Durasi Fase Proestrus	29
4.3 Morfologi Sel Epitel Fase Estrus.....	33
4.4 Durasi Fase Estrus	36
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perlakuan dan Dosis Perlakuan.....	22
2. Rata-rata durasi fase proestrus pada mencit setelah pemberian ekstrak daun sirih (<i>Piper betle</i> L.) \pm standar deviasi.....	30
3. Rata-rata durasi fase estrus pada mencit setelah pemberian ekstrak daun sirih (<i>Piper betle</i> L.) \pm standar deviasi.....	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Sirih	7
2. Morfologi Daun Sirih.....	8
3. Siklus Hidup Mencit.	12
4. Penampakan vagina pada berbagai fase siklus estrus tikus strain.....	15
5. Sitologi Sel Epitel Normal Pada Fase Estrus Mencit Menggunakan.....	18
6. Diagram Alir Perlakuan	24
7 Struktur sel epitel ulas vagina mencit (<i>Mus musculus</i> L.)	26
8. Struktur sel epitel ulas vagina mencit (<i>Mus musculus</i> L.)	34

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sistem reproduksi wanita tersusun atas organ reproduksi internal dan eksternal yang berperan dalam proses menstruasi dan reproduksi. Sistem ini berfungsi menghasilkan gamet betina berupa ovum, mengatur produksi dan keseimbangan hormon seks, serta menyediakan lingkungan yang mendukung perkembangan sel telur yang telah dibuahi hingga menjadi janin yang siap dilahirkan. Masa reproduktif wanita dimulai sejak menarke, yaitu menstruasi pertama, dan berakhir pada menopause yang ditandai dengan tidak terjadinya menstruasi selama dua belas bulan berturut-turut. Sepanjang periode tersebut, ovarium secara berkala melepaskan sel telur dalam suatu proses fisiologis yang bersifat siklik. Ovum yang dilepaskan memiliki peluang untuk dibuahi oleh sperma, dan proses pelepasan ovum ini merupakan bagian normal dari siklus menstruasi wanita (Rosner dkk., 2024). Siklus menstruasi pada hewan primata dan manusia secara fisiologis memiliki kesetaraan dengan siklus estrus pada mencit (Haryanto dkk., 2019).

Fase estrus pada mencit berlangsung secara berulang dan membentuk suatu pola siklik yang berkesinambungan, dikenal sebagai siklus estrus. Siklus ini terdiri atas empat tahap berurutan, yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus, dengan durasi rata-rata 4–5 hari pada mencit strain BALB/c (Haryanto dkk., 2019). Siklus estrus adalah rangkaian fase yang berlangsung dari satu periode estrus ke periode estrus berikutnya, yang ditandai oleh perubahan-perubahan siklik pada organ reproduksi tertentu, seperti ovarium, uterus, dan

vagina, yang dikendalikan oleh berbagai hormon reproduksi, terutama hormon estrogen (Narulita dkk., 2017). Perubahan struktur epitel tersebut merupakan hasil regulasi hormon reproduksi, terutama hormon estrogen, yang berperan penting dalam mengatur proliferasi dan maturasi sel-sel epitel vagina (Sitasiwi, 2012).

Estrogen merupakan salah satu hormon reproduksi utama yang memiliki peran penting dalam sistem reproduksi hewan betina. Hormon ini mampu meningkatkan proses sintesis dan sekresi hormon pertumbuhan, sehingga merangsang proliferasi atau pertumbuhan sel dalam tubuh. Selain itu, estrogen juga menghasilkan berbagai efek estrogenik, diantaranya mempengaruhi perkembangan karakter seksual sekunder, mengatur perilaku kawin atau estrus, mempersiapkan uterus untuk proses implantasi, serta mendukung perkembangan kelenjar susu (Sugiritama dan Adiputra, 2019).

Menurut penelitian Zakri dkk. (2023) menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) mengandung flavonoid yang mampu menghambat aktivitas enzim aromatase, sehingga memengaruhi pembentukan hormon estrogen. Penurunan kadar estrogen akibat terhambatnya konversi androgen menjadi estrogen menyebabkan gangguan pada proses spermatogenesis pada mencit jantan, yang ditunjukkan dengan penurunan pembentukan dan pematangan spermatozoa. Temuan ini menegaskan bahwa ekstrak daun sirih memiliki aktivitas biologis yang berkaitan langsung dengan regulasi hormon estrogen.

Selain itu, efek estrogenik dari ekstrak daun sirih juga ditemukan pada sistem reproduksi betina, mengingat estrogen berperan penting dalam pengaturan siklus estrus. Perubahan kadar estrogen dapat memengaruhi pematangan folikel ovarium, proliferasi sel epitel vagina, serta durasi fase-fase siklus estrus. Oleh karena itu, keberadaan senyawa aktif dalam ekstrak daun sirih yang memengaruhi aktivitas estrogen berpotensi menimbulkan perubahan pola siklus estrus pada mencit betina, meskipun kajian ilmiah yang secara khusus

membuktikan efek tersebut masih terbatas dan memerlukan penelitian lebih lanjut.

Dari uraian di atas perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) pada wanita yang dapat diujikan pada mencit betina (*Mus musculus* L.) dengan melihat struktur sel-sel epitel pada ulas vagina fase proestrus dan estrus serta durasi estrus mencit betina dengan metode apus vagina. Pengamatan terhadap siklus ini dapat dilakukan melalui pemeriksaan sitologi epitel vagina, yang dideteksi menggunakan metode ulasan vagina (*vaginal smear*) dengan pewarnaan Giemsa. Setiap fase menunjukkan komposisi dan morfologi sel epitel vagina yang berbeda, mencerminkan aktivitas hormonal yang terjadi selama satu siklus reproduksi. Perubahan struktur epitel tersebut merupakan hasil regulasi hormon reproduksi, terutama hormon estrogen, yang berperan penting dalam mengatur proliferasi dan maturasi sel-sel epitel vagina (Sitasiwi dan Mardiati, 2012).

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap perubahan morfologi sel epitel pada ulas vagina mencit betina (*Mus musculus* L.).
2. Untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap durasi fase estrus dan proestrus pada mencit betina (*Mus musculus* L.).

1.3 Kerangka Teoritis

Sistem reproduksi betina merupakan suatu sistem biologis yang berperan dalam proses reproduksi, meliputi produksi gamet betina berupa ovum, pengaturan hormon reproduksi, serta penyediaan lingkungan yang mendukung terjadinya pembuahan dan perkembangan embrio. Aktivitas sistem reproduksi betina

berlangsung selama masa reproduktif, yaitu sejak menarke hingga menopause, dan ditandai oleh proses ovulasi yang terjadi secara periodik. Pada manusia dan hewan primata, proses ini dikenal sebagai siklus menstruasi, yang secara fisiologis memiliki kesetaraan mekanisme dengan siklus estrus pada mencit. Kesetaraan tersebut mencakup regulasi hormonal, proses ovulasi, serta perubahan jaringan pada organ reproduksi, sehingga mencit banyak digunakan sebagai hewan model dalam penelitian sistem reproduksi betina.

Siklus estrus pada mencit berlangsung secara berulang dan membentuk pola siklik yang berkesinambungan, yang terdiri atas fase proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus. Setiap fase menunjukkan karakteristik fisiologis dan morfologis yang berbeda, khususnya pada organ reproduksi seperti ovarium, uterus, dan vagina. Siklus estrus dikendalikan oleh regulasi hormon reproduksi, terutama hormon estrogen, yang berperan penting dalam mengatur pematangan folikel ovarium, ovulasi, serta perubahan struktur jaringan reproduksi. Fluktuasi kadar estrogen selama siklus estrus menyebabkan perubahan yang khas pada sel-sel epitel vagina, terutama pada fase proestrus dan estrus, yang ditandai dengan peningkatan proliferasi dan maturasi sel epitel.

Estrogen merupakan salah satu hormon utama dalam sistem reproduksi betina yang memiliki berbagai efek fisiologis, antara lain merangsang pertumbuhan dan proliferasi sel, memengaruhi perkembangan karakter seksual sekunder, mengatur perilaku estrus, mempersiapkan uterus untuk implantasi, serta mendukung perkembangan kelenjar susu. Perubahan kadar estrogen, baik peningkatan maupun penurunan, dapat berdampak langsung terhadap keteraturan siklus estrus dan karakteristik sel epitel vagina.

Ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) diketahui mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas biologis terhadap sistem endokrin, khususnya melalui penghambatan enzim aromatase yang berperan dalam konversi androgen menjadi estrogen. Hambatan terhadap aktivitas enzim ini berpotensi

menurunkan kadar estrogen dalam tubuh. Perubahan kadar estrogen akibat paparan senyawa aktif dalam ekstrak daun sirih dapat memengaruhi pematangan folikel ovarium, proliferasi sel epitel vagina, serta durasi fase-fase siklus estrus. Dengan demikian, ekstrak daun sirih diduga memiliki pengaruh terhadap pola siklus estrus pada mencit betina.

Pengamatan terhadap siklus estrus dan perubahan struktur epitel vagina dapat dilakukan melalui metode ulas vagina menggunakan pewarnaan Giemsa. Setiap fase siklus estrus menunjukkan komposisi dan morfologi sel epitel vagina yang berbeda, sehingga pemeriksaan sitologi vagina dapat digunakan sebagai indikator aktivitas hormonal dan sebagai parameter untuk menilai pengaruh pemberian ekstrak daun sirih terhadap siklus estrus dan struktur sel epitel vagina pada mencit betina.

1.4 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dapat menyebabkan perubahan komposisi dan struktur sel epitel ulas vagina mencit betina (*Mus musculus* L).
2. Ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dapat mempercepat durasi estrus fase proestrus dan fase estrus mencit betina (*Mus musculus* L).

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sirih (*Piper betle* L.)

2.1.1 Klasifikasi Sirih

Tanaman sirih merupakan salah satu tanaman herbal yang mudah dikenali, baik dari bentuk daunnya yang khas maupun aroma unik yang tercium saat daunnya diremas atau disobek (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, 2020). Sirih hijau (*Piper betle* L.) tumbuh subur di berbagai wilayah beriklim tropis, mulai dari Asia hingga Afrika Timur, dan telah tersebar luas di Indonesia, Malaysia, Thailand, Sri Lanka, India, hingga Madagaskar (Gultom dkk., 2017). Klasifikasi sirih (*Piper betle* L.) adalah sebagai berikut (Tjitrosoepomo, 1993):

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Magnoliopsida
Sub-kelas : Magnolilidae
Familia : Piperales
Genus : *Piperaceae*
Spesies : *Piper betle* L.

Sirih merupakan salah satu jenis tumbuhan yang banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional. Tanaman ini termasuk dalam famili

Piperaceae, tumbuh secara merambat dan menjalar, dengan ketinggian yang dapat mencapai 5 hingga 15 meter, tergantung pada kondisi pertumbuhan dan media rambatnya (Gultom dkk., 2017). Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman Sirih (Seedy Farm, 2025).

Berdasarkan bentuk bijinya, tanaman dari famili *Piperaceae* tergolong dalam kelompok tumbuhan dikotil, yaitu tanaman yang memiliki biji berkeping dua. Genus *Piper* termasuk kelompok tumbuhan berbunga yang memiliki habitus berupa semak atau perdu, dengan pertumbuhan yang cenderung memanjat menggunakan akar lekat. Umumnya, daun tanaman ini menghasilkan aroma khas dan memiliki rasa pedas. Bunga pada tumbuhan dari genus *Piper* berbentuk bunga majemuk yang tersusun dalam untaian, dengan buah berbentuk batu yang kecil, kering, dan keras (Yuliana, 2023). Daun sirih sendiri berbentuk menyerupai jantung, dengan ujung yang runcing, tumbuh berselang-seling, bertangkai, dan bertekstur kasar saat disentuh. Daun ini juga mengeluarkan aroma yang harum (aromatis). Ukuran daun bervariasi, dengan panjang berkisar antara 6 hingga 17,5 cm dan lebar 3,5 hingga 10 cm (Gultom dkk., 2017).

Daunnya berbentuk pipih menyerupai hati, dengan tangkai yang relatif panjang. Permukaan daun berwarna hijau dan tampak licin, sementara batangnya berwarna hijau kecokelatan, bertekstur kasar, dan permukaan kulitnya tampak berkeriput. Daun sirih bersifat tunggal dan tersusun secara berselang-seling, dengan bentuk yang bervariasi, mulai dari bundar hingga oval. Ujung daun meruncing, sedangkan pangkal daun berbentuk jantung atau sedikit bundar dengan bentuk yang asimetris. Warna daun bervariasi, mulai dari kuning, hijau muda, hingga hijau tua, serta mengeluarkan aroma khas yang harum (Agung dkk., 2021). Seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi Daun Sirih (Sarjani dkk., 2017)

2.1.2 Kandungan dan Manfaat Tanaman Sirih

Berbagai bagian tanaman sirih (*Piper betle* L.), seperti akar, biji, dan daun, memiliki potensi sebagai bahan obat. Namun, bagian yang paling sering digunakan adalah daunnya, yang dikenal kaya akan senyawa

bioaktif. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun sirih antara lain minyak atsiri, seskuiterpen, triterpen, terpenoid, sitosterol, neolignan, krotepoksid (Gultom dkk., 2017). Hal ini didukung oleh Dwianggraini dkk. (2013) yang menyatakan bahwa kandungan pada daun sirih yaitu minyak atsiri sebesar 4,2%, dengan komponen utama berupa betephenol, yang berfungsi sebagai agen antibakteri. Minyak atsiri yang terdapat dalam daun sirih mengandung senyawa fenol alami dengan daya antiseptik lima kali lebih kuat dibandingkan fenol biasa, bersifat bakterisid dan fungisid, meskipun tidak bersifat sporasid. Minyak atsiri ini bersifat mudah menguap serta memberikan aroma yang khas pada daun sirih. Agung dkk. (2021) juga mengungkapkan selain komponen utama betephenol, juga diperkaya dengan senyawa fenilpropanoid dan tanin. Kombinasi senyawa ini memberikan aktivitas antimikroba dan antijamur yang kuat, sehingga efektif dalam menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri.

Daun sirih hijau juga mengandung berbagai senyawa bioaktif lainnya, seperti steroid, tanin, flavonoid, saponin, fenol, alkaloid, kumarin, dan emodin (Patil dkk., 2015). Kandungan senyawa-senyawa tersebut berkontribusi terhadap beragam aktivitas farmakologis yang mendukung pemanfaatan daun sirih sebagai bahan obat tradisional (Sadiah dkk., 2022). Senyawa aktif seperti fenol, alkaloid, flavonoid, dan tanin yang secara tradisional telah dimanfaatkan sebagai agen antifertilitas alami (Longdong dkk., 2017).

2.2 Mencit

2.2.1 Klasifikasi Mencit (*Mus musculus* L.)

Hewan laboratorium atau hewan coba, adalah hewan yang secara khusus dipelihara atau dibudidayakan untuk mendukung berbagai kegiatan

penelitian di bidang biologi. Pemanfaatan hewan coba dalam penelitian memerlukan pengetahuan serta keterampilan yang memadai, mencakup berbagai aspek biologis terkait pemeliharaan, penanganan, dan etika penggunaan hewan tersebut di lingkungan laboratorium. Salah satu hewan coba yang paling banyak digunakan adalah mencit laboratorium. Sejak awal abad ke-17, mencit telah dimanfaatkan dalam studi komparatif anatomi, dan penggunaannya berkembang pesat pada abad ke-19 seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan. Hingga saat ini, telah tersedia beragam strain atau galur mencit yang memungkinkan peneliti melakukan berbagai jenis percobaan dengan tingkat presisi dan reproduktibilitas yang tinggi, menjadikan mencit sebagai model hewan yang sangat penting dalam riset biomedis modern (Intan dan Khariri., 2020). Adapun klasifikasi dari mencit (*Mus musculus* L.) menurut Priyambodo (1995) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Sub Famili : Murinae
Genus : *Mus*
Spesies : *Mus musculus* L

Mencit merupakan salah satu hewan model yang paling banyak digunakan dalam penelitian laboratorium, dengan proporsi pemanfaatan mencapai 40–80%. Penggunaan mencit dalam riset biologi sangat luas karena berbagai keunggulan yang dimilikinya. Hewan ini memiliki siklus hidup yang relatif singkat, mampu menghasilkan keturunan dalam jumlah besar per kelahiran, menunjukkan keragaman sifat yang tinggi, serta

mudah dalam hal pemeliharaan dan penanganan. Secara alami, mencit adalah hewan omnivora, sehat, kuat, prolifik (memiliki kemampuan reproduksi tinggi), berukuran kecil, dan bersifat jinak. Selain itu, mencit mudah diperoleh dengan harga yang terjangkau dan biaya pakan yang rendah. Meskipun umumnya tidak agresif, mencit dapat menggigit apabila merasa terancam saat dipegang atau ditangani. Hewan ini juga sering menunjukkan perilaku alami seperti menggali dan membuat sarang, yang berperan penting dalam membantu menjaga suhu tubuhnya (Rejeki dkk., 2018).

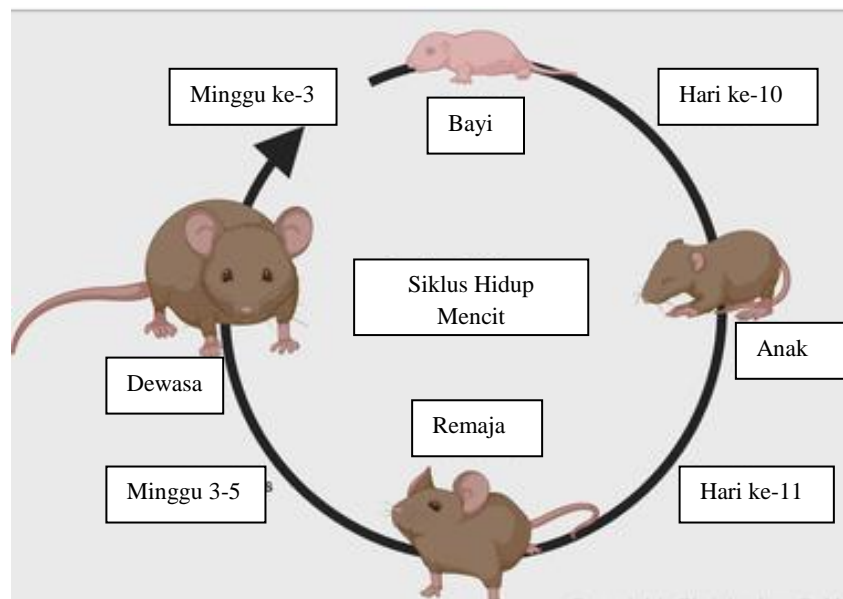
Mencit memiliki rentang usia hidup antara 1 hingga 3 tahun. Di antara hewan sejenis, mencit merupakan yang berukuran paling kecil, dan salah satu galur yang paling umum digunakan dalam penelitian adalah mencit berwarna putih. Termasuk dalam ordo Rodentia (hewan pengerat), mencit dikenal memiliki kemampuan reproduksi yang sangat cepat. Mencit rumah atau mencit liar masih tergolong dalam genus yang sama dengan mencit laboratorium. Pemeliharaannya relatif mudah, bahkan dalam jumlah besar sekalipun, serta tergolong ekonomis dan efisien baik dari segi ruang maupun biaya. Dari segi fisik, mencit laboratorium memiliki berat badan yang tidak jauh berbeda dengan mencit liar, yaitu sekitar 18–20 gram pada usia 4 minggu, dan meningkat menjadi 30–40 gram pada usia 6 minggu atau lebih. Selain itu, mencit memiliki keragaman genetik yang cukup tinggi, dan karakteristik anatomi serta fisiologinya telah terdokumentasi dengan baik. Salah satu keunggulan penting mencit sebagai hewan model adalah adanya kesamaan fisiologis dan biokimiawi dengan manusia, yang menjadikannya sangat relevan dalam penelitian biomedis (Mu'nisa dkk., 2022).

2.2.2 Sistem Reproduksi Mencit

Mencit merupakan salah satu hewan yang bersifat polytokus, yaitu dapat melahirkan banyak anak. Siklus estrusnya dapat melakukan ovulasi lebih

dari satu ovum sehingga akan dapat terbentuk lebih dari satu korpus luteum (Shehu dkk., 2014).

Mencit adalah hewan kecil dengan panjang tubuh sekitar 7–10 cm dan berat 12–30 gram. Tubuhnya ditutupi bulu putih, telinganya besar dan runcing, serta memiliki mata kecil berwarna hitam. Ekornya panjang dan ramping, kira-kira setengah dari panjang tubuhnya. Mencit betina mulai bisa berkembang biak saat usianya sekitar 4–6 minggu. Mereka mengalami masa birahi (estrus) setiap 4–5 hari sekali, dan fase birahi ini berlangsung kurang lebih 12 jam. Dalam sekali melahirkan, mencit betina bisa memiliki 4 hingga 12 bayi (Ariyanto dkk., 2024). Berikut siklus hidup mencit yang ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Siklus Hidup Mencit (Hayes dan Alder, 2024).

Alat reproduksi betina mencakup ovarium serta saluran reproduksi yang terdiri dari tuba fallopii, tanduk rahim (cornu uteri), badan rahim (corpus uteri), leher rahim (serviks uteri), dan organ kelamin luar yaitu vagina dan vulva. Ovarium merupakan organ reproduksi utama yang berperan dalam menghasilkan sel telur (ovum) dan hormon-hormon kelamin betina

seperti estrogen dan progesteron, terutama selama masa kebuntingan. Ovarium terletak di sisi kiri dan kanan rahim dalam rongga panggul, dan dihubungkan ke dinding dorsal tubuh oleh *broad ligament*. Bagian dasar ovarium disebut stroma, yang terdiri atas jaringan ikat, otot polos, serta banyak pembuluh darah. Struktur ovarium terdiri dari dua bagian utama, yaitu korteks yang membungkus medula. Ovarium memiliki dua fungsi, yaitu sebagai kelenjar eksokrin yang memproduksi ovum, dan sebagai kelenjar endokrin yang menghasilkan hormon kelamin betina, yaitu estrogen dan progesteron (Antari dkk., 2023).

Ovulasi adalah proses keluarnya sel telur (ovum) dari ovarium karena pecahnya folikel *de Graaf*. Setelah ovulasi terjadi, permukaan ovarium akan tampak cekung, lalu bagian ini terisi oleh darah dan cairan limfa yang membentuk struktur bernama korpus luteum. Korpus luteum tersusun dari sel-sel granulosa dan sejumlah kecil sel teka. Karena sel granulosa mengandung pigmen lipokrom, korpus luteum tampak berwarna kuning. Seiring waktu, korpus luteum akan mengalami penyusutan atau regresi (Antari dkk., 2023).

2.3 Siklus Estrus

Reproduksi merupakan proses perbanyak keturunan pada makhluk hidup. Siklus reproduksi yang berlangsung secara normal melibatkan berbagai mekanisme fisiologis yang dipengaruhi oleh faktor internal maupun eksternal. Pada hewan betina dewasa, proses ini dikenal sebagai siklus estrus. Siklus reproduksi yang serupa dengan yang terjadi pada mamalia primata juga ditemukan pada mamalia nonprimata, dikenal sebagai siklus estrus. Siklus ini terdiri dari empat fase, yaitu: diestrus, proestrus, estrus, dan metestrus (postestrus). Pada fase estrus, terjadi ovulasi serta puncak birahi, di mana betina berada dalam kondisi paling reseptif untuk kopulasi dengan jantan. Selama satu

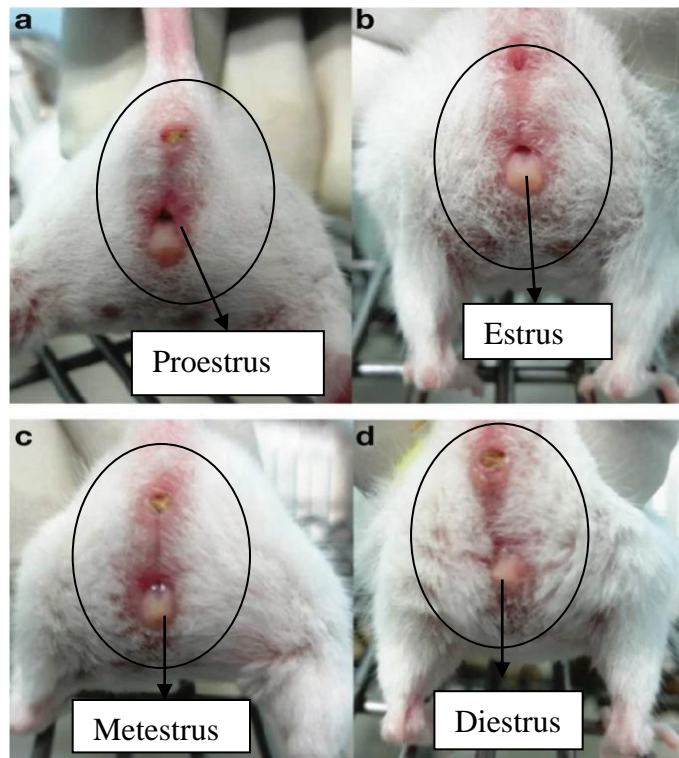
siklus birahi, terjadi berbagai perubahan fisiologis pada organ reproduksi betina yang berlangsung secara berkesinambungan, hingga akhirnya kembali ke tahap awal. Umumnya, awal siklus dianggap sebagai munculnya gejala birahi. Namun, dalam kajian fisiologi reproduksi, peristiwa ovulasi yang terjadi setelah birahi kerap dipakai sebagai titik awal siklus. Bila siklus birahi dilihat berdasarkan gejala eksternal, maka ia dibagi menjadi empat fase: proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus (Huda dkk., 2017).

Estrogen merupakan salah satu hormon reproduksi utama yang memiliki peran penting dalam sistem reproduksi hewan betina. Hormon ini mampu meningkatkan proses sintesis dan sekresi hormon pertumbuhan, sehingga merangsang proliferasi atau pertumbuhan sel dalam tubuh. Selain itu, estrogen juga menghasilkan berbagai efek estrogenik, diantaranya mempengaruhi perkembangan karakter seksual sekunder, mengatur perilaku kawin atau estrus, mempersiapkan uterus untuk proses implantasi, serta mendukung perkembangan kelenjar susu (Sugiritama dan Adiputra, 2019).

Periode reproduksi dan siklus estrus pada mencit dimulai sekitar hari ke-26 pascakelahiran, yang ditandai dengan terbukanya vagina. Peristiwa ini terjadi sekitar 10 hari sebelum terjadinya kornifikasi vagina, dan berhubungan erat dengan peningkatan konsentrasi hormon estradiol. Pada mencit, pembukaan vagina bertepatan dengan terjadinya ovulasi pertama. Proses ini dimediasi oleh mekanisme apoptosis, dan menjadi karakteristik sekunder yang penting serta digunakan sebagai indikator terjadinya pubertas. Pada mencit betina, pubertas diawali dengan pelepasan Hormon Luteinisasi (LH) yang berlangsung secara berdenyut, biasanya mulai terjadi setelah minggu keempat pascanatal, yakni sekitar hari ke-30. Masa ini dikenal sebagai fase anestrus, yang berlangsung sekitar 8 hingga 9 hari sebelum mencit mengalami fase proestrus pertama.

Setelah melewati fase anestrus, mencit akan memasuki siklus estrus yang terdiri atas empat fase berturut-turut, yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus.

Fase proestrus merupakan tahap persiapan di mana hewan mulai menunjukkan kesiapan fisiologis dan perilaku untuk mengalami birahi. Selanjutnya, fase estrus merupakan periode puncak birahi, saat ovulasi terjadi dan betina siap menerima pejantan untuk kopulasi. Setelah fase ini, mencit memasuki fase metestrus, yang merupakan periode singkat yang ditandai dengan penurunan fungsi korpus luteum apabila tidak terjadi pembuahan. Aktivitas organ reproduksi secara bertahap mulai menurun pada fase ini. Fase berikutnya adalah diestrus, yaitu masa istirahat singkat yang terjadi selama musim kawin. Di luar musim kawin, mencit berada dalam fase anestrus, yaitu periode tidak kawin ketika organ reproduksi dalam keadaan inaktif atau dorman. Gambar 4 menunjukkan penampakan vagina pada berbagai tahap siklus estrus pada mencit.



Gambar 4. Penampakan vagina pada berbagai fase siklus estrus tikus strain albino Swiss (Ekambaram dkk., 2020)

Pada tahap awal, perubahan makroskopis pada vulva, seperti pembengkakan, serta sekresi vagina, yang dapat berupa pendarahan atau lendir, disertai kongesti pada uterus, digunakan sebagai indikator untuk menentukan fase siklus estrus. Selain itu, perubahan mikroskopis yang terjadi pada saluran reproduksi juga menjadi parameter penting dalam identifikasi fase ini. Setiap fase dalam siklus estrus ini disertai oleh berbagai perubahan, baik dalam aspek perilaku maupun pada tingkat morfologi, sitologi, dan sitologi saluran reproduksi. Perubahan-perubahan ini mencerminkan dinamika fisiologis yang kompleks yang berlangsung selama siklus reproduksi mencit (Ajayi dan Akhigbe, 2020).

Pada setiap fase siklus estrus, terdapat perubahan karakteristik makroskopis pada vagina mencit yang dapat diamati secara visual. Pada fase proestrus, vagina tampak terbuka dengan jaringan yang lembab serta berwarna merah muda kemerahan. Pada tahap ini, terlihat banyak lipatan longitudinal atau striasi pada bibir dorsal dan ventral vagina. Memasuki fase estrus, penampakan vagina menyerupai kondisi pada fase proestrus, namun jaringan tampak lebih pucat (merah muda yang lebih muda) dan tingkat kelembaban berkurang. Selain itu, striasi pada jaringan menjadi lebih jelas terlihat. Pada fase metestrus, jaringan vagina tampak pucat dan kering, dengan bibir dorsal yang tidak lagi tampak *edematous* (bengkak) seperti pada fase estrus. Selanjutnya, pembengkakan bibir telah lebih lanjut berkurang. Pada tahap ini, dapat ditemukan debris seluler putih yang melapisi dinding bagian dalam vagina atau bahkan sebagian mengisi rongga vagina. Terakhir, pada fase diestrus, vagina tampak lembap dan lubang vagina mengecil. Jaringan vagina pada fase ini biasanya berwarna kebiruan keunguan, yang menjadi indikator khas bahwa hewan berada pada fase istirahat dalam siklus estrus (Ekambaram dkk., 2017). Secara umum, siklus estrus pada mencit berlangsung selama sekitar 4 hari (Darma dkk., 2017). Namun, durasi siklus ini dapat mengalami perubahan yang dipengaruhi oleh berbagai faktor. Faktor-faktor tersebut terbagi menjadi dua kelompok, yaitu faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik. Faktor intrinsik

mencakup pengaruh dari dalam tubuh mencit, seperti usia dan faktor genetik. Sementara itu, faktor ekstrinsik meliputi pengaruh dari lingkungan luar, antara lain fotoperiodisme (lama pencahayaan) serta ketersediaan pakan (Sitasiwi dan Mardiaty, 2016).

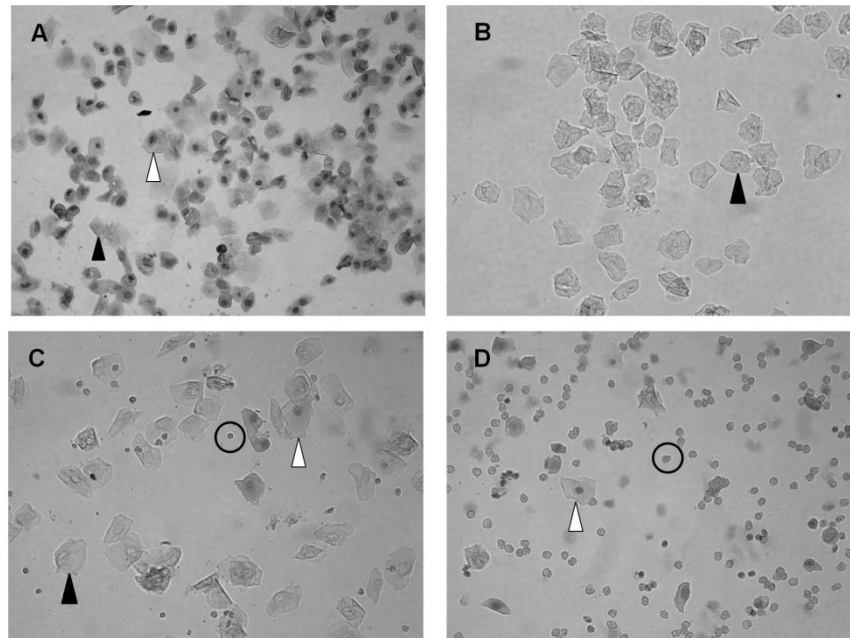
2.4 Metode Apus Vagina (*Vaginal smear*)

Teknik apus vagina atau *vaginal smear* merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk mengidentifikasi fase-fase dalam siklus estrus. Teknik ini bersifat tidak melukai jaringan, relatif ekonomis, serta memiliki tingkat akurasi yang tinggi, meskipun memerlukan keterampilan dalam pemeriksaan mikroskopis (Sahoo dkk., 2014).

Pengambilan sampel dilakukan melalui usapan vagina dengan menggunakan *cotton bud* yang telah dibasahi NaCl Fisiologis 9%. *Cotton bud* kemudian dimasukkan secara perlahan ke dalam vagina mencit yang telah ditahan, diputar perlahan di sepanjang dinding vagina untuk mengumpulkan sel epitel, lalu dikeluarkan. Selanjutnya, *cotton bud* dioleskan di atas *slide* gelas kaca untuk memindahkan sel yang terkumpul. Kemudian diwarnai sesuai prosedur menggunakan giemsa 1 tetes dan diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x (McLean dkk., 2012).

Menurut Byers dkk. (2012) pada fase proestrus normal, sebagian besar sel epitel masih berinti, dengan sedikit sel epitel yang sudah mengalami keratinisasi. Kadang, leukosit juga muncul, terutama pada awal proestrus. Saat memasuki estrus, sel epitel yang terlihat hampir semuanya sudah terkeratinisasi. Jika tidak terjadi kehamilan atau gangguan lain, siklus berlanjut ke metestrus, yaitu fase singkat ketika korpus luteum terbentuk tetapi tidak berkembang sempurna karena rendahnya progesteron. Pada tahap ini, lapisan rahim mulai mengelupas, sehingga pada usapan vagina terlihat sel epitel terkeratinisasi bercampur dengan leukosit polimorfonuklear. Menjelang akhir metestrus,

beberapa sel epitel berinti juga dapat ditemukan. Selanjutnya masuk ke fase diestrus, yang merupakan tahap paling lama (lebih dari 2 hari). Usapan vagina pada diestrus umumnya didominasi leukosit polimorfonuklear, dengan sedikit sel epitel pada akhir fase. Leukosit berperan membersihkan sisa-sisa sel yang terlepas. Setelah itu, siklus kembali mengulang dari awal. Pada Gambar 5 menunjukkan sitologi sel epitel normal pada fase estrus mencit.



Gambar 5. Sitologi Sel Epitel Normal Pada Fase Estrus Mencit Menggunakan Pewarnaan Giemsa Perbesaran 40x (Byers dkk., 2012)

Keterangan : Tiga jenis sel diidentifikasi: leukosit (lingkaran), epitel terkeratinisasi (panah hitam), dan epitel berinti (panah putih). Tahapan estrus meliputi proestrus (A), estrus (B), metestrus (C), diestrus (D).

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 sampai November 2025. Pembuatan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dilakukan di Laboratorium Botani 1 Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang mencit sejumlah 20 kandang, tempat makanan dan minuman untuk mencit, kertas label untuk pemberian nama preparat, gelas objek dan gelas penutup untuk pembuatan preparat apus vagina, *cotton bud for baby* merk Alfamart digunakan untuk mengambil sel-sel vagina, mikroskop cahaya untuk pengamatan, neraca analitik.

3.2.2 Bahan

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina yang berusia sekitar 3 bulan dengan berat 20-30 gram sejumlah 20 ekor, daun sirih, akuades, air untuk minum mencit, pakan mencit yang berupa pelet ayam, sekam yang berupa serbuk kayu atau padi, giemsa untuk pewarnaan, minyak imersi untuk memperjelas hasil pengamatan, dan ekstrak daun sirih.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pemeliharaan Mencit

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina berumur sekitar 2-3 bulan, dalam kondisi fertil, dengan berat badan berkisar antara 25-30 gram, yang diperoleh dari Minimouse Mencit Sukarame, Bandarlampung. Sebelum perlakuan, mencit diaklimatisasi selama 7 hari di lingkungan laboratorium untuk beradaptasi terhadap kondisi lingkungan dan perlakuan yang akan diberikan. Selanjutnya, mencit dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok, masing-masing terdiri atas 5 ekor. Setiap mencit diberikan perlakuan secara oral satu kali sehari, dengan variasi konsentrasi perlakuan di setiap kelompok. Proses pemberian perlakuan dilakukan setiap pagi pada pukul 10.00 WIB. Selama penelitian, mencit diberi pakan berupa pelet ayam. Pemeliharaan dilakukan di kandang khusus mencit yang terbuat dari kawat dan papan kayu, berukuran 15 × 15 cm, dengan total 20 kandang yang digunakan.

3.3.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih

Ekstraksi daun sirih dilakukan dengan pengumpulan daun yang didapatkan dari Desa Rama Nirwana (RN6), Kecamatan Seputih Raman, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung. Sebelum dilakukan ekstraksi, daun sirih terlebih dahulu dibersihkan dengan air mengalir, kemudian daun sirih dikeringkan menggunakan sinar matahari selama tiga hari dengan penutup kain hitam. Setelah kering, daun sirih di giling hingga menjadi serbuk halus. Kemudian simplisia daun sirih dimaserasi dalam botol kaca berisi etanol 96% selama tiga hari, dengan pengadukan selama 10 menit setiap harinya. Setelah 72 jam, maserat disaring menggunakan kertas saring hingga diperoleh ekstrak cair. Filtrat yang dihasilkan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak sirih kental (Sholihin dan Ducha, 2024).

3.3.3 Perhitungan Pemberian Perlakuan Ekstrak Etanol Daun Sirih

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

1. Dosis 300 mg/gBB (P1)

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

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

2. Dosis 400 mg/gBB (P2)

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

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

3. Dosis 500 mg/gBB (P3)

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

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

3.3.4 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 perlakuan ekstrak etanol daun sirih diberikan dengan cara dicekok menggunakan spluit atau sonde yang ujungnya telah ditumpulkan dan diberi pipa karet kecil (Zakri dkk., 2023). Kemudian perlakuan pemberian ekstrak dilakukan pada pukul 10.00 WIB dan dilakukan ulas vagina serta

pengamatan sitologi vaginanya selama 14 hari. Berdasarkan perhitungan yang telah dilakukan, pemberian dosis ekstrak etanol daun sirih yang akan diberikan untuk perlakuan pada mencit betina ditunjukkan pada Tabel 1 sebagai berikut.

Tabel 1 Perlakuan dan Dosis Perlakuan

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

3.3.4 Pengambilan Sampel Sel Vagina

Pengambilan sampel dilakukan melalui usapan vagina dengan menggunakan *cotton bud* yang telah dibasahi NaCl Fisiologis 9%. *Cotton bud* kemudian dimasukkan secara perlahan ke dalam vagina mencit yang telah ditahan, diputar perlahan di sepanjang dinding vagina untuk mengumpulkan sel epitel, lalu dikeluarkan. Selanjutnya, *cotton bud* dioleskan di atas *slide* gelas kaca untuk memindahkan sel yang terkumpul. Kemudian diwarnai sesuai prosedur menggunakan giemsa 1 tetes dan diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x (McLean dkk., 2012).

3.3.5 Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi bentuk sel epitel vagina serta durasi siklus estrus, khususnya masa subur pada fase

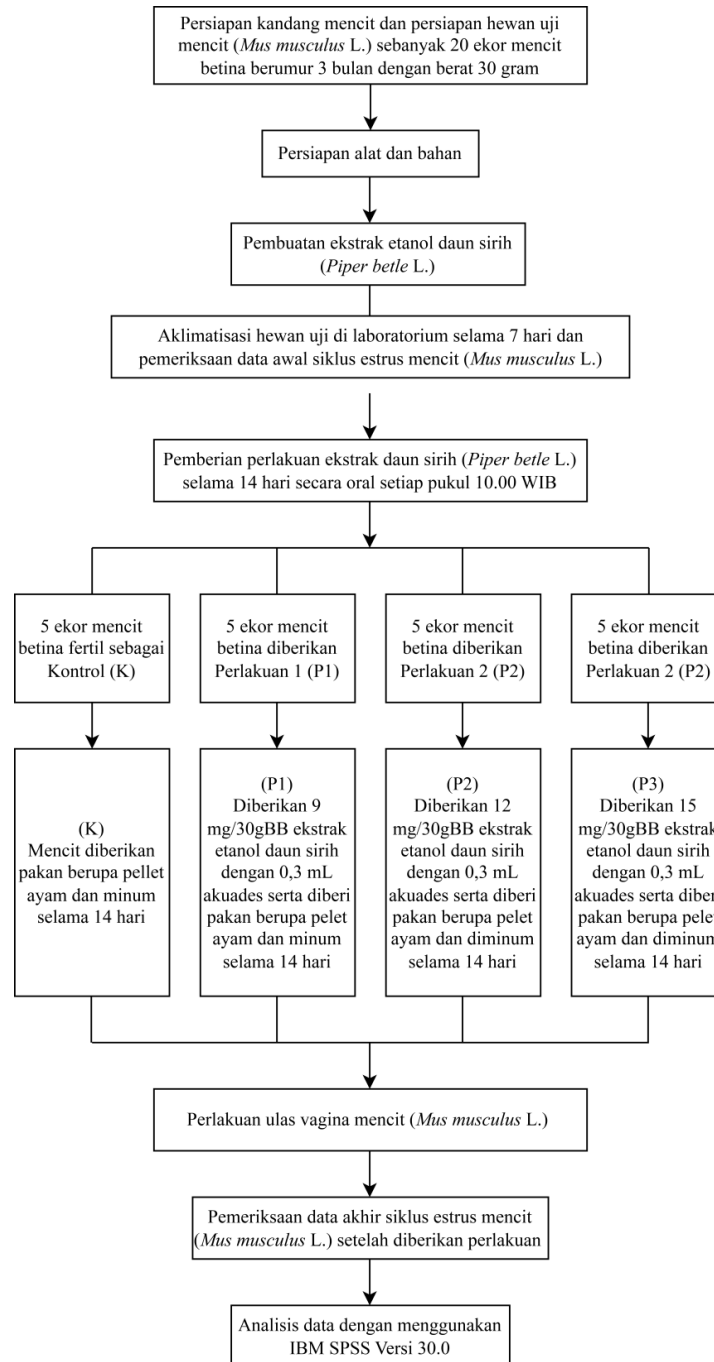
proestrus dan estrus, pada mencit (*Mus musculus* L.) setelah diberikan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.). Fase proestrus ditandai dengan keberadaan sel epitel normal dan leukosit pada preparat sitologi, sementara fase estrus dicirikan oleh kehadiran sel epitel bertanduk. Pengukuran durasi siklus estrus dilakukan dengan membandingkan lama siklus estrus mencit sebelum perlakuan dengan durasi siklus estrus setelah perlakuan.

3.3.6 Analisis Data

Variabel pengamatan yang diamati pada penelitian ini adalah struktur sel-sel epitel vagina pada fase proestrus dan estrus serta durasi fase estrus pada mencit betina. Data yang didapatkan dari hasil pengamatan dapat dilakukan analisis statistik pada parameter dengan menggunakan IBM SPSS Statistics Versi 30.0 dengan uji lanjut menggunakan Metode *Duncant Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf kepercayaan 95%.

3.3.7 Diagram Alir Penelitian

Diagram alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram Alir Perlakuan

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pemberian ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap mencit betina (*Mus musculus* L.)

1. Tidak menimbulkan perubahan yang signifikan terhadap morfologi, komposisi, maupun struktur sel epitel pada ulas vagina mencit.
2. Tidak berpengaruh signifikan terhadap durasi fase proestrus dan fase estrus pada mencit.

5.2 Saran

Adapun saran yang dapat diajukan dari hasil penelitian ini adalah:

1. Penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan variasi dosis ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.) yang lebih luas serta memperpanjang durasi pencekohan guna mengetahui potensi pengaruhnya secara lebih nyata terhadap siklus estrus mencit betina.
2. Penelitian selanjutnya disarankan untuk mengamati struktur lapisan jaringan pada jaringan epitel ulas vagina.

DAFTAR PUSTAKA

- Agung, I. G. A. A., Hervina, & Sandi, N. W. A. 2021. *Nutrisi dan Zat Bioaktif Daun Sirih (Piper betle L.), Kesehatan Gigi dan Mulut, Serta Covid-19*. Denpasar: Universitas Mahasaraswati Press.
- Ajayi, A. F., & Akhigbe, R. E. 2020. Staging of the Estrous Cycle and Induction of Estrus in Experimental Rodents: an Update. *Fertility Research and Practice*. 6(5): 1-15.
- Antari, N. W. S., Damayanti, I. A. M., Padmiswari. A. A. I. M., & Harditya, K. B. 2023. Gambaran Sitologi Ovarium dan Fluktuasi Hormon Estrogen pada Mencit Betina (*Mus musculus* L.) yang Diberi Ekstrak Buah Zuriat (*Hyphaene thebaica*) Sebagai Antioksidan Alami. *Mahesa: Malahayati Health Student Journal*. 3(4): 1160-1170.
- Ariyanto, A. J., Sari, D. N. O., Lestari, P. P., Syachviar, S. A., Prayoga, A., & Ulfah, M. 2024. *Budidaya Mencit*. Rua Aksara: Yogyakarta.
- Azzahra, B. A., Francantika, M., Azzahra, Z., Ahda, Y., & Atifah, Y. 2023. Pengaruh Pemberian Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale*) Terhadap Siklus Estrus Mencit Betina (*Mus musculus*). *Prosiding Seminar Nasional Biologi*. 3(1): 745-751.
- B2P2TOOT. 2020. *Budidaya dan Manfaat Sirih untuk Kesehatan*. Tawangmangu: Lembaga Penerbit badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Biswal, S. 2014. Phytochemical Analysis and Study of Antiestrogenic and Antifertility Effect of *Piper betle* Leaf in Female Albino Rats. *Ancient Science of Life*. 34(1): 16–22.
- Byers, S. L., Wiles, M. V., Dunn, S. L., & Taft, R. A. 2012. Mouse Estrous Cycle Identification Tool and Images. *Plos One*. 7(4): 1-5.

- Cederroth, C. R., Zimmermann, C., & Nef, S. 2012. Soy, Phytoestrogens and Their Impact on Reproductive Health. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 355(2): 192–200.
- Darma, V. T., Santoso, M. L., & Riyanto. 2017. Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus* L) dan Sumbangannya terhadap Pembelajaran Biologi SMA. *Jurnal Pembelajaran Biologi*. 4(1). 77-87.
- Dwianggraini, R., Pujiastuti, P., & Ermawati, T. 2013. Perbedaan Efektifitas Antibakteri Antara Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap *Porphyromonas gingivalis*. *Stomatognatic-Jurnal Kedokteran Gigi*. 10(1): 1-5.
- Ekambaram G., S. K. S K., & Joseph L.D. 2020. Comparative Study on the Estimation of Estrous Cycle in Mice by Visual and Vaginal Lavage Method. *J Clin Diagnostic Res*.11(1): AC05–7.
- Fatmala, Y., Mahrus., & Zulkifli, L. 2022. Estrogenic Effects of Tapak Dara (*Catharantus roseus*) Leaf Methanol Extract on The Estrus Cycle of Adult Female Mice (*Mus musculus*) Balb/C Strain. *Jurnal Biologi Tropis*. 22(3): 803-808.
- Gultom, F. K. B., Nababan J., Sinambela, T. M., Harizka, T., & Rahmatsyah. 2017. Uji Daya Absorbansi Etanol pada Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Einstein*. 5(2): 1-6.
- Haryanto, Wulan, P., Nisa, I. 2019. Siklus Estrus Mencit Betina Virgin (*Mus musculus*) Strain BALB/c Setelah Terpapar Berbagai Jenis Sound. *Journal of Science, Technology and Enterpreneurship*.1(2).
- Hayes, C., & Alder, P. 2024. *Biology and Behavior of Common Structure-Invading Mice*. NC State Extension Publications., <https://content.ces.ncsu.edu/biology-behavior-of-common-structure-invading-mice> (Diakses pada tanggal 20 Juni 2025).
- Huda, N. K., Sumarmin, R., & Ahda, Y. 2017. Pengaruh Ekstrak Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) Terhadap Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus* L. Swiss Webster). *Eksakta*. 18(2): 69-76.

- Intan, P. R., & Khariri. 2020. Pemanfaatan Hewan Laboratorium yang Sesuai Untuk Pengujian Obat dan Vaksin. *Prosiding Seminar Nasional Biologi di Era Pandemi COVID-19*.
- Longdong, J. J., Queljoe, E. D., & Yudistira, A. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Spermatogenesis Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 6(3): 120-127.
- McLean A. C., Valenzuela, N., Fai, S., & Bennett, S. A. L. 2012. Performing Vaginal Lavage, Crystal Violet Staining, and Vaginal Cytological Evaluation or Mouse Estrous Cycle Staging Identification. *J Vis Exp*. 15(67): 1-6
- Mu'nisa., Jumadi, O., Junda, M., Caronge, M. W., & Hamjaya, H. P. 2022. *Teknik Manajemen Dan Pengelolaan Hewan Percobaan*. Makassar: Jurusan Biologi FMIPA UNM.
- Narulita, E., Prihatin, J., Anam, K., & Oktavia, F. A. R. H. 2017. Perubahan Kadar Estradiol dan Histologi Uterus Mencit (*Mus musculus*) Betina dengan Induksi Progesteron Sintetik. *Biosfera*.
- Patil, R. S., Harale, P. M., Shivangekar, K. V., Kumbhar, P., & Desai, R. 2015. Phytochemical Potential and in Vitro Antimicrobial Activity of *Piper betle* Linn. Leaf Extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(5): 1095-1101.
- Priyambodo, S. 1995. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- 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.
- Rietjens, I. M. C. M., Sotoca, A. M., Vervoort, J., & Louisse, J. 2013. Mechanisms Underlying the Dualistic Mode of Action of Major Soy Isoflavones in Relation to Cell Proliferation and Cancer Risks. *Molecular Nutrition & Food Research*. 57(1): 100–113.
- Rosner, J., Samardzic, T., & Sarao, M. S. 2025. *Physiology, Female Reproduction*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537132/> (Diakses pada tanggal 15 Februari 2026).

- Sadiyah, H. H., Cahyadi, A. I., & Windria, S. 2022. Kajian Potensi Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) sebagai Antibakteri. *Jurnal Sain Veteriner*. 40(2): 128-138.
- Sahoo H. B., Nandy, S., Senapati, A. K., Sarangi, S. P., & Sahoo, S. K. 2014. Aphrodisiac Activity Of Polyherbal Formulation In Experimental Models On Male Rats. *Pharm Res*. 6: 120–126.
- Sarjani, T. M., Mawardi., Pandia, E. S., & Wulandari, D. 2017. Identifikasi Morfologi Dan Anatomi Tipe Stomata Famili *Piperaceae* Di Kota Langsa. *JUPI: Jurnal IPA dan Pembelajaran IPA*. 1(2): 182-191.
- Seedy Farm. 2025. *How to Grow Betel Leaves at Home: Complete Guide*. https://seedy-farm.translate.google.com/growing-guide/betel-leaf/?x_tr_sl=en&x_tr_tl=id&x_tr_hl=id&x_tr_pto=imgs. (Diakses pada 9 Agustus 2025).
- Shehu, B., Gidado, A., & Buratai L. 2014. Hypoglycaemic, Hypolipidaemic and Possible Toxicity of the Methanolic Fruit Pulp Extract of *Hyphane thebaica* (L) Mart in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *J Med Applied Biosci*. 6: 1–10.
- Sholihin, A. M. N., & Ducha, N. 2024. Pengaruh Kemangi (*Ocimum basilicum*) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus*) yang Diberikan Paparan Asap Rokok. *Lentera Bio*. 13(2): 289-299.
- Sirotkin, A. V., & Harrath, A. H. 2014. Phytoestrogens And Their Effects. *European Journal of Pharmacology*. 741: 230–236.
- Sitasiwi, A. J., & Mardiaty, S. M. 2016. Efek Antifertilitas Ekstrak Air dari Biji Carica papaya terhadap Keteraturan Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus* L.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 1(1). 68-74.
- Sugiritama, I. W., & Adiputra, I. N. 2019. Potensi Antosianin Dalam Manajemen Menopause. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 8(1): 158-166.
- Sunand, K., Yellow, M., Naveen, P., Deepika, Y., Mohan, G. K., & Bakshi, V. 2019. Betel Leaf Extract Amends Dehydroepiandrosterone Induced PCOS Related Hormonal Abnormality and Histopathological Alterations in Rat Model. *Pharmacogn J*. 11(6): 1442-1448.

- Swift, K. M., Gary, N. C., & Urbanczyk, P. J. 2024. On The Basis of Sex and Sleep: The Influence of The Estrous Cycle and Sex on Sleep-wake Behavior. *Frontiers in Neuroscience*. 1-12.
- Rahmi, A., Ardana, A. A., Husnia, A., Aprilya, R., Atifah, Y., & Rahmatika, H. 2023. Pengaruh Ekstrak Tebu Hitam Terhadap Siklus Estrus Mencit Betina (*Mus musculus*). *Prosiding SEMNAS BIO 2023*.
- Rejeki, P. R., Putri, E. A. C., & Prasetya, R. E. 2018. *Ovariectomi Pada Tikus Dan Mencit*. Surabaya: Pusat Penerbitan dan Percetakan Universitas Airlangga (AUP).
- Ramadhiani, M., Yusharyahya, S. N., Astriningrum, R., & Hestiantoro, A. 2021. Beberapa Jenis Fitoestrogen Sebagai Terapi Untuk Penuaan Kulit Pada Perempuan Pasca Menopause. *Media Dermato-Venereologica Indonesiana*. 48(2): 181-188.
- Tjitrosoepomo, G. 1993. *Taksonomi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Yuliana, L. 2023. Studi Morfologi Genus Piper dan Variasinya. *Biocaster: Jurnal Kajian Biologi*. 3(1): 11-19.
- Wicaksono, A. W., Trilaksana, I. G. N. B., & Laksmi, D. N. D. I. 2013. Pemberian Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*) Terhadap Lama Siklus Estrus Pada Mencit. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2(4): 369-374.
- Zakri, D. F., Hasanah, H., Salsabilla, V., Ahda, Y., & Atifah, Y. 2023. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Spermatogenesis *Mus musculus*. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*. 10(10): 2973-2977.
- Zou, Z., Guo, J., Zheng, Y., Xiao, Y., & Guo, A. 2022. Genomic Analysis Of LEA Genes In *Carica papaya* And Insight Into Lineage-Specific Family Evolution In Brassicales. *Life*. 12(9):1453.