

## **AKTIVITAS SITOTOKSIK MINYAK ATSIRI HERBA PALMAROSA (*Cymbopogon martinii* L.) TERHADAP SEL KANKER MCF-7 DAN A549 SECARA IN VITRO**

**Susilowati<sup>1\*</sup>, Ahwan<sup>2</sup>, Ardy Prian Nirwana<sup>3</sup>, Zhausan Dina Alifya<sup>1</sup>**

<sup>1,4</sup>Departemen Obat Bahan Alam, Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Jl. Raya Solo - Baki, Bangorwo, Kwarasan, Grogol, Sukoharjo, Jawa Tengah 57552, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Farmasi, Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sahid Surakarta, Jl. Adi Sucipto No.154, Jajar, Laweyan, Surakarta, Jawa Tengah 57144, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Mikrobiologi, Program Studi D3 Teknologi Laboratorium Medis, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Jl. Raya Solo - Baki, Bangorwo, Kwarasan, Grogol, Sukoharjo, Jawa Tengah 57552, Indonesia

\*[susilowati@stikesnas.ac.id](mailto:susilowati@stikesnas.ac.id)

### **ABSTRAK**

Kanker payudara dan kanker paru-paru merupakan jenis kanker dengan tingkat kejadian dan kematian yang tinggi di seluruh dunia. Palmarosa Essential Oil (PEO) mengandung geraniol yang telah terbukti bersifat sitotoksik terhadap sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas sitotoksik PEO secara terpisah terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan sel kanker paru-paru A549. PEO diekstraksi dari herba *Cymbopogon martinii* dengan distilasi uap dan kemudian dinilai kualitasnya berdasarkan rendemen dan organoleptisnya. Teknik yang digunakan dalam uji sitotoksik menggunakan uji MTT dengan nilai IC<sub>50</sub> sebagai indikator sitotoksitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa PEO memiliki rendemen 0,25%, berbau kuning muda yang khas, dan memiliki indeks bias 1,471. PEO menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 343,02 µg/ml terhadap sel MCF-7 dan 288,05 µg/ml terhadap sel A549. PEO menunjukkan aktivitas sitotoksik yang sel kanker payudara MCF-7 dan sel kanker paru A549 dengan kategori sitotoksik lemah.

Kata kunci: *cymbopogon martinii*; minyak atsiri; sitotoksik

### ***CYTOTOXIC ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL OF PALMAROSA HERBA (*Cymbopogon martinii* L.) AGAINST MCF-7 AND A-549 CANCER CELLS IN VITRO***

#### **ABSTRACT**

*Breast cancer and lung cancer are types of cancer that have a high rate of occurrence and death globally. Palmarosa essential oil (PEO) is said to have geraniol, a compound that has been demonstrated to be cytotoxic to cancer cells. The objective of this study was to evaluate the cytotoxic activity of PEO on MCF-7 breast cancer cells and A549 lung cancer cells separately. Method: The PEO was extracted by steam distillation and then assessed for quality based on its yield, appearance, and refractive index. The technique employed in the cytotoxic test involves the use of the MTT assay with the IC<sub>50</sub> value as the indicator of cytotoxicity. The results showed that PEO had a yield of 0.25%, displayed a characteristic light yellow smell, and had a refractive index of 1.471. The PEO demonstrated an IC<sub>50</sub> value of 343.02 µg/ml against MCF-7 cells and 288.05 µg/ml against A549 cells. PEO showed weak cytotoxic activity against MCF-7 breast cancer cells and A549 lung cancer cells.*

*Keywords: cymbopogon martinii; cytotoxic; essential oil*

#### **PENDAHULUAN**

Kanker payudara dan kanker paru-paru merupakan jenis kanker dengan jumlah kematian tertinggi akibat kanker (Kementerian Kesehatan RI, 2022). Penggunaan obat kemoterapi merupakan salah satu pengobatan utama yang diberikan namun memiliki beberapa efek samping ringan - berat antara lain kebotakan, mual, muntah, dan sistem imun yang menurun. Beberapa obat kemoterapi kurang selektif dalam membunuh sel kanker bahkan sel normal pun ikut terbunuh (Fatmawati et al., 2018). Obat bahan alam umumnya memiliki efek samping yang lebih ringan sehingga meminimalkan kerusakan pada sel sehat atau sel normal dan mengurangi efek samping yang tidak diinginkan (Jainab & Raja, 2018). Berdasarkan hal tersebut banyak penelitian melakukan pengembangan pengobatan tradisional sebagai antikanker dengan menggunakan bahan alam.

Salah satu bahan alam yang dapat dikembangkan sebagai terapi kanker yaitu *Cymbopogon martinii* atau lebih dikenal dengan palmarosa. PEO merupakan minyak atsiri yang dihasilkan oleh Palmarosa dengan geraniol sebagai komponen dominan yang diketahui memiliki aktivitas sitotoksik terhadap

berbagai sel kanker (Gateva et al., 2019). Senyawa geraniol merupakan komponen utama dari tanaman palmarosa terbukti efektif melawan berbagai jenis kanker, termasuk kanker payudara, paru-paru, usus besar, prostat, pankreas, kulit, hati, ginjal, dan mulut (Silvia et al., 2022). Sejauh ini belum melaporkan potensi antikanker minyak atsiri herba palmarosa terhadap sel kanker payudara dan sel kanker paru-paru. Penelitian ini bertujuan untuk pengujian aktivitas sitotoksik minyak atsiri herba Palmarosa terhadap sel kanker payudara sel kanker payudara MCF-7 dan sel kanker paru-paru A549 menggunakan metode Microtetrazolium (MTT) sebagai salah satu parameter uji antikanker serta untuk melihat potensi metabolit sekunder minyak atsiri herba palmarosa dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker.

## METODE

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, timbangan, oven, chamber, Destilator, culture dish, mikroskop, mikroskop interved, inkubator, mikropipet, pipet steril, hemocytometer, conical tube, microtube, couter, tabung eppendorf, vortex, ELISA reader (Bio-Rad Benchmark), mikroplate-Well 96 (NEST), cover slip, pinset, pipet, object glass, laptop, sarung tangan, masker, tissue, aluminium foil, yellowtip, bluetip. Bahan-bahan yang digunakan adalah *C. martinii* yang dipanen dari Rumah Minyak Atsiri Indonesia, Tawangmangu, Indonesia, RPMI (Gibco), DMSO (Gibco), MTT (50 mg MTT dan 10 mL PBS), DMEM, sel T47D, dan sel Vero dari Laboratorium Parasitologi (Universitas Gadjah Mada), Serum Foetal Bovine 10% (Gibco), SDS stopper 10% (Sigma), dan 0,1 HCl (Merck). Semua bahan kimia lainnya merupakan analytical grade.

### Langkah Penelitian

#### 3.1. Destilasi Uap-Air

Destilasi tanaman herba palmarosa menggunakan metode destilasi uap-air. Pada persiapan bahan Herba *C.martinii* dipanen dan disortir serta dikeringkan pada suhu ruangan selama 24 jam dan disuling dengan destilasi uap air. Bagian bawah rak filter berlubang di distilator diisi dengan 10 L air, dan sampel diletakkan di atas rak. Distilator dipanaskan selama 45 menit, kemudian air dialirkan melalui selang ke kondensor. Waktu destilasi dari tetesan pertama di kondensor hingga tetesan terakhir dihitung, dan minyak atsiri diambil dari separator. PEO disimpan dalam wadah tertutup rapat, terhindar dari cahaya. Minyak atsiri yang diperoleh selanjutnya diuji kualitasnya terhadap rendemen, warna dan bau (Utami et al., 2023).

#### 3.2. Uji Sitotoksitas Terhadap Sel MCF-7 Dan Sel A-549

Sitotoksitas minyak atsiri herba palmarosa menggunakan metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromid). Sebanyak 100  $\mu$ L suspensi sel (104 sel/mL) dimasukkan ke dalam wellplate 96 dan diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO<sub>2</sub>. Masing – masing seri konsentrasi sejumlah 100  $\mu$ L ditambahkan ke dalam wellplate 96 kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam. Konsentrasi larutan uji minyak atsiri herba palmarosa terhadap sel MCF-7 dan sel A-549 yaitu 1000  $\mu$ g/ml; 500  $\mu$ g/ml; 250  $\mu$ g/ml; 125  $\mu$ g/ml; 62,5  $\mu$ g/ml; 31,25  $\mu$ g/ml dan 15,62  $\mu$ g/ml. Larutan MTT sebanyak 100  $\mu$ L ditambahkan ke setiap sumuran dan diinkubasi selama 4 jam. Reaksi dihentikan dengan penambahan sodium dodecyl sulfate (SDS) 10%. Absorbansi masing – masing sumuran diukur menggunakan ELISA reader dengan  $\lambda = 595$  nm. Data hasil pembacaan sitotoksik yang diperoleh dalam penelitian ini selanjutnya diuji menggunakan analisis probit untuk menentukan IC<sub>50</sub> yang disajikan dalam grafik konsentrasi versus persentase sel hidup (Susilowati et al, 2022). Potensi antikanker sampel berdasarkan U.S. National Cancer Institute (NCI) terdapat 4 kategori senyawa toksik dilihat dari IC<sub>50</sub> nya yaitu : IC<sub>50</sub>  $\leq$  20  $\mu$ g/ml = tinggi, IC<sub>50</sub> 21-200  $\mu$ g/ml = moderat toksik, IC<sub>50</sub> 201-500  $\mu$ g/ml = lemah dan IC<sub>50</sub>  $>$  500  $\mu$ g/ml = tidak toksik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Hasil Destilasi Minyak Atsiri

Isolasi minyak atsiri dari herba palmarosa menggunakan metode destilasi uap-air, metode destilasi ini memiliki keuntungan yaitu uap air dapat tersebar secara merata, kemudian waktu proses penyulingan lebih singkat, serta memiliki mutu minyak yang lebih baik (Syafrizal et al., 2024).

Pada destilasi uap air, antara air dan minyak atsiri dalam herba palmarosa tidak menguap secara bersama-sama. Rendemen PEO yang dihasilkan melalui penyulingan metode destilasi uap-air selama 4 jam 10 menit, serta rendemen yang dihasilkan adalah 1,83%. Semakin lama waktu penyulingan maka semakin banyak minyak yang dihasilkan dan rendemen yang diperoleh. Metode ini baik digunakan karena bisa menghasilkan minyak atsiri dalam jumlah yang cukup banyak sehingga efisien dalam penggunaan (Ayub et al., 2023), namun metode destilasi uap-air membutuhkan uap yang cukup besar agar tidak terjadi penggumpalan yang akan menghambat proses penyebaran uap. Ketika uap besar maka proses penyulingan akan optimal dalam memisahkan minyak. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi hasil rendemen minyak atsiri. Jenis bahan baku, ukuran dan mutu bahan baku serta peralatan yang digunakan merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi rendemen minyak atsiri palmarosa (Nur, et al. 2019).

2. Uji Kualitas PEO

Hasil kontrol kualitas menunjukan minyak atsiri Palmarosa yang dihasilkan memenuhi nilai standar mutu minyak atsiri Palmarosa berdasarkan ISO 4727:2021.

Tabel 1.

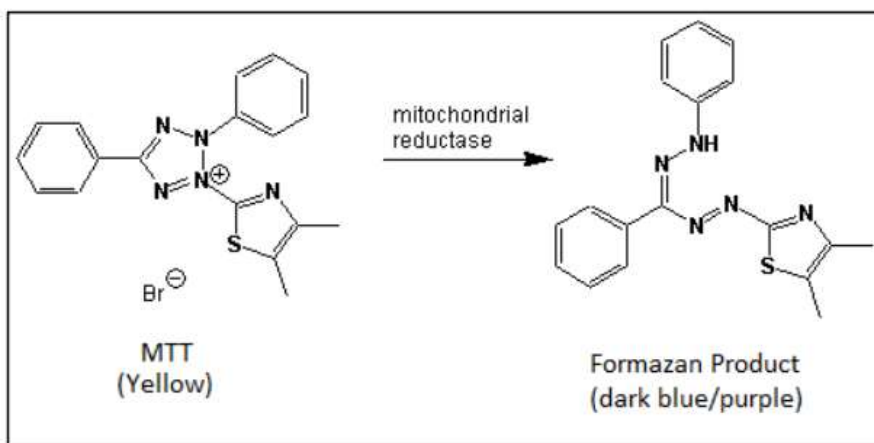
Kadar rendemen dan organoleptis minyak atsiri herba palmarosa

No.	Parameter	ISO 4727:2021	Destilasi uap air
1	Warna	Kuning muda pucat	Kuning muda
2	Bau	khas palmarosa/ aromatik	khas palmarosa/ aromatic

Minyak atsiri palmarosa yang dihasilkan berwarna kuning pucat (Tabel 1). Hal tersebut sesuai dengan penelitian (Suryani & Idris, 2021) bahwa warna minyak palmarosa yang baik adalah berwarna kuning pucat. Hal ini pun menunjukkan bahwa penggunaan alat penyulingan dari stainless steel adalah cara yang baik digunakan untuk menghasilkan minyak atsiri dengan kualitas tinggi dan sesuai dengan penelitian sebelumnya karena tidak menimbulkan kontaminasi dengan minyak atsiri sehingga tidak berwarna keruh dan gelap.

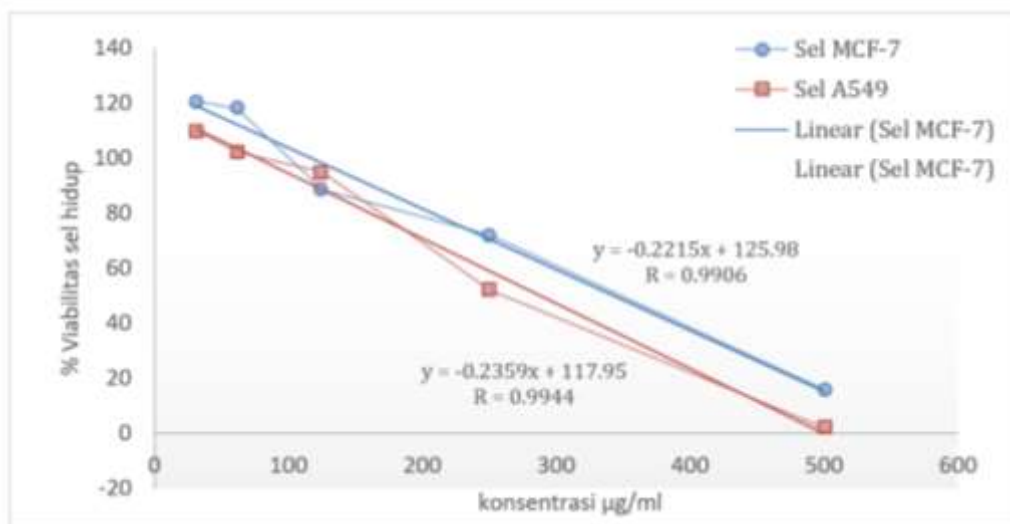
3. Sitotoksisitas PEO terhadap sel MCF-7 dan sel A-549

Uji sitotoksisitas dilakukan untuk mengetahui efek sitotoksik minyak atsiri herba palmarosa terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan sel vero menggunakan metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromid). Prinsip dari metode ini adalah adanya perubahan warna kuning dari tetrazolium MTT menjadi formazan yang berwarna ungu (gambar 1). Semakin berwarna ungu artinya banyak pula sel yang hidup, begitu pula sebaliknya (Susilowati et al., 2022). Untuk melarutkan garam formazan dan menghentikan reaksi maka ditambahkan SDS 10%. Pembacaan plate menggunakan Elisa reader. Umumnya panjang gelombang yang digunakan yaitu 595 nm. Terbentuknya kristal formazan sebagai sel yang hidup yang dapat terbaca oleh Elisa reader dalam bentuk absorbansi (Dahham et al., 2015).



Gambar 1. Reaksi kimia MTT dan sel kanker. MTT direduksi oleh mitokondria dalam sel kanker membentuk kristal formazan biru atau ungu (Ghasemi, 2021)

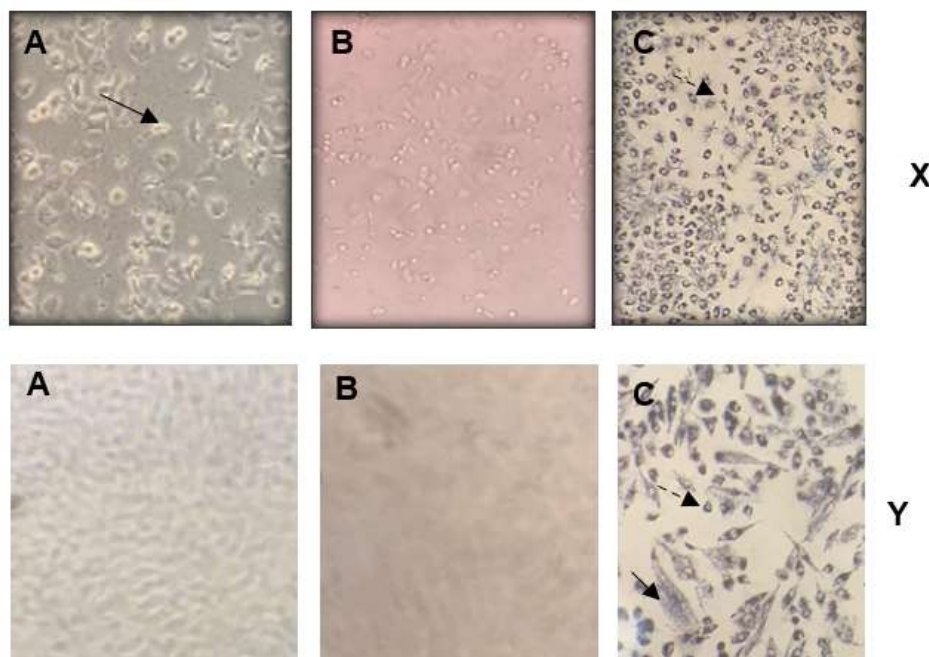
Dalam penelitian ini menunjukkan PEO mengakibatkan penurunan presentase viabilitas sel kanker payudara MCF-7 dan sel A549 (gambar 2). Hasil uji pada kedua sel dengan konsentrasi terendah (31.25 µg/mL) menunjukkan persentase sel hidup paling tinggi, sedangkan persentase sel hidup paling rendah terdapat pada konsentrasi tertinggi (500 µg/mL). Hal ini menunjukkan semakin besar konsentrasi maka viabilitas semakin kecil (*dose dependent manner*) yang artinya semakin sedikit sel yang masih hidup pada konsentrasi yang besar (Churiyah et al., 2020). Pada penelitian ini menghasilkan kurva yang memiliki hubungan linearitas yang sangat kuat baik pada sel MCF-7 maupun terhadap sel A549. Hal ini dikarenakan nilai R = 0,8 – 1,00 menunjukkan hubungan lineritas yang sangat kuat (Husna & Mita, 2020).



Gambar 2. Grafik Konsentrasi terhadap Persen Sel Hidup pada Sel Kanker payudara MCF-7 dan sel kanker paru-paru A549

Potensi sitotoksik suatu zat dinilai dari nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibition concentration 50%*) yaitu konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker sebesar 50% populasi sel, sehingga dapat menyatakan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel (Susilowati, et al., 2022). Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dengan cara mensubtitusi nilai 50 pada y sehingga diperoleh nilai x sebagai nilai IC<sub>50</sub>. Pada penelitian terhadap minyak atsiri herba palmarosa ini menunjukkan sitotoksitas terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> 343.02 µg/ml dan 288,05 µg/mL terhadap sel A549. Berdasarkan kategori kekuatan toksik National Cancer Institute (NCI) dalam ketentuan nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan minyak atsiri herba palmarosa memiliki toksisitas yang lemah baik terhadap sel kanker payudara MCF-7 maupun sel kanker paru-paru A549.

Morfologi sel MCF-7 dan sel A549 menunjukkan sel hidup tampak bersinar cemerlang dan batas membran dengan media akan terlihat sedangkan morfologi berbentuk menyerupai sel epitel (Pirsko et al., 2018). Pada morfologi setelah pemberian perlakuan PEO morfologi kedua sel berbentuk bulat. Sel yang mati setelah perlakuan sampel mengalami pengkerutan, sitoplasma menghilang sehingga sel menjadi lebih kecil. Kerusakan sel mengakibatkan morfologi sel menjadi bulat keruh (Vašiček et al., 2019). Morfologi sel setelah pemberian reagen MTT akan menghasilkan kristal formazan dengan bentuk seperti kristal-kristal tajam berduri yang berwarna hitam, sedangkan yang berwarna hitam dan berbentuk tidak beraturan tersebut merupakan sel-sel yang telah mati (Rai et al., 2018).



Gambar 3. Morfologi sel pada uji sitotoksik. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop inverted dengan pembesaran 100x. Morfologi sel MCF-7 (X); Morfologi sel A549 (Y); Kontrol sel (A); setelah perlakuan sampel konsentrasi 125 µg/mL terhadap sel MCF-7 dan 62,5 µg/mL sel A549 (B); pemberian reagen MTT (C). Morfologi sel yang hidup ditunjukkan dengan gambar panah hitam (→) dan sel yang mengalami kematian ditunjukkan dengan panah putus-putus (↯).

Senyawa geraniol merupakan senyawa utama yang terkandung dalam PEO (minyak atsiri herba palmarosa). Geraniol mampu menghentikan pertumbuhan MCF-7 sel dalam fase G1 tetapi tidak efektif pada sel epitel payudara normal (MCF-10F) (Gateva et al., 2019). Selain itu, mekanisme Geraniol dapat menghambat pertumbuhan sel MCF-7 dengan mengurangi kadar protein siklin D1, kinase 4 yang bergantung pada siklin (CDK-4), siklin E, dan siklin A, serta meningkatkan kadar P27 sehingga terjadi penahanan siklus sel pada fase G1 dan proliferasi sel berhenti (Ducan et al, 2004). Pada sel kanker A549, Efek geraniol dikaitkan dengan penghambatan jalur mevalonat, yang sangat penting untuk proliferasi dan kelangsungan hidup sel (Gale et al, 2014). Lemahnya aktivitas sitotoksik pada penelitian ini kemungkinan disebabkan oleh karakteristik senyawa minyak atsiri yang mudah menguap sehingga membutuhkan kondisi tertentu agar senyawa tidak hilang sebelum berinteraksi dengan sel kanker.

**SIMPULAN**

Ketidakteraturan siklus menstruasi pada remaja putri merupakan kondisi yang umum terjadi akibat ketidakseimbangan hormon reproduksi, yang dipengaruhi oleh berbagai faktor umum seperti gaya hidup tidak sehat, stres, serta status kesehatan secara menyeluruh. Berdasarkan hasil analisis literatur, ditemukan bahwa faktor dominan yang paling berkontribusi terhadap ketidakteraturan siklus menstruasi adalah aktivitas fisik yang berlebihan, stres berkepanjangan, serta pola makan yang tidak seimbang. Ketiga faktor ini secara langsung mengganggu fungsi sumbu hipotalamus-hipofisis-ovarium yang mengatur proses ovulasi dan menstruasi. Untuk mencegah ketidakteraturan siklus menstruasi, diperlukan pendekatan promotif dan preventif berupa penerapan pola hidup sehat, seperti menjaga aktivitas fisik yang seimbang, mengelola stres secara efektif, menerapkan pola makan bergizi seimbang, serta memastikan kualitas dan durasi tidur yang cukup. Selain itu, pemantauan status gizi juga penting agar keseimbangan hormon tetap terjaga, sehingga siklus menstruasi dapat berlangsung secara teratur dan optimal.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abbasi, S., Naz, S., Khalid, S., & Bukhari, A. (2022). Menstrual Pattern and Common Menstrual Disorders among Adolescent Girls. *Pakistan Journal of Medical and Health Sciences*, 16(6).
- Akhila, G., Shaik, A., & Kumar, R. D. (2020). Current factors affecting the menstrual cycle. *International Journal of Research in Hospital and Clinical Pharmacy*, 2(1).
- Ali, A., Khalafala, H., & Fadlalmola, H. (2020). Menstrual Disorders Among Nursing Students at Al Neelain University, Khartoum State. *Sudan Journal of Medical Sciences*.
- Arifin, Y., Ety Aprianty, & Widya Wiguna. (2023). Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Tindakan Personal Hygiene Saat Menstruasi Pada Remaja Putri. *JURNAL KESEHATAN MERCUSUAR*, 6(2).
- Attia, G. M., Alharbi, O. A., & Aljohani, R. M. (2023). The Impact of Irregular Menstruation on Health: A Review of the Literature. *Cureus*.
- Aulya, N., Aprilia, A., Nurbaiti, L., Andari, M. Y., & Rizkinov Jumsa, M. (2023). Hubungan Status Gizi Dengan Gangguan Siklus Menstruasi Santri Putri Di Madrasah Aliyah Putri Ponpes Darul Muhajirin Praya. *Fakultas Kedokteran Universitas Udayana | Medicina*, 54(2), 73–78.
- Beroukhim, G., Esencan, E., & Seifer, D. B. (2022). Impact of sleep patterns upon female neuroendocrinology and reproductive outcomes: a comprehensive review. In *Reproductive Biology and Endocrinology* (Vol. 20, Issue 1).
- Djashar, F. F., Herlinawati, S. W., & Arifandi, F. (2022). Hubungan antara Aktivitas Fisik dengan Siklus Menstruasi Pelajar Kelas XI SMA Kharisma Bangsa dan Tinjauannya Menurut Pandangan Islam The Relationship between Physical Activity and Menstrual Cycle 11 th - Grade Kharisma Bangsa High School Student and its R. *Junior Medical Jurnal*, 1(2), 189–196.
- Güzeldere, H. K. B., Efendioğlu, E. H., Mutlu, S., Esen, H. N., Karaca, G. N., & Çağırdaş, B. (2024). The relationship between dietary habits and menstruation problems in women: a cross-sectional study. *BMC Women's Health*, 24(1), 1–8.
- Handayani, P., Rahmi, J., Amalia, M., Marsshanda, S., Widya Dharma Husada Tangerang, Stik., Padjajaran No, J., & Tangerang Selatan, K. (2021). Hubungan Tingkat Stres Dan Aktivitas Fisik Dengan Siklus Menstruasi Pada Remaja Putri Kelas Xii Di Sma Pgrl Sindang Sono Kabupaten Tangerang. *MAP Midwifery and Public Health Journal*, 2(1), 2022.
- He, H., Yu, X., Chen, T., Yang, F., Zhang, M., & Ge, H. (2021). Sleep Status and Menstrual Problems among Chinese Young Females. In *BioMed Research International* (Vol. 2021).
- Huhmann, K. (2020). Menses Requires Energy: A Review of How Disordered Eating, Excessive Exercise, and High Stress Lead to Menstrual Irregularities. In *Clinical Therapeutics* (Vol. 42, Issue 3).
- Jeon, B., & Baek, J. (2023). Menstrual disturbances and its association with sleep disturbances: a systematic review. *BMC Women's Health*, 23(1), 1–19.
- Juraiti, W., Abbas, A., Harjunita, R., Tosepu, R., Effendy, S., & Susanty, S. (2024). Analisis Aktivitas Fisik Harian terhadap Gangguan Menstruasi pada Mahasiswa Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Halu Oleo Analysis Of Daily Physical Activities On Menstrual Disorders In Students Of The Faculty Of Public Health Halu Oleo University Mag. 7(1), 46–52.

- Kemenkes RI. (2018). Laporan Riset Kesehatan Dasar. *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Kiss, O., Arnold, A., Weiss, H. A., & Baker, F. C. (2024). The relationship between sleep and menstrual problems in early adolescent girls. *Sleep Science and Practice*.
- Lim, H. S., Kim, T. H., Lee, H. H., Park, Y. H., Lee, B. R., Park, Y. J., & Kim, Y. S. (2018). Fast food consumption alongside socioeconomic status, stress, exercise, and sleep duration are associated with menstrual irregularities in Korean adolescents: Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2009-2013. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 27(5).
- Liu, X., Chen, H., Liu, Z. Z., Fan, F., & Jia, C. X. (2017). Early menarche and menstrual problems are associated with sleep disturbance in a large sample of Chinese adolescent girls. *Sleep*, 40(9).
- Meriati, Masthura, S., & Nursa'adah. (2025). *Pengaruh Stres , Pola Makan dan Aktivitas Fisik terhadap Perubahan Siklus Menstruasi pada Remaja Putri*. 6(1), 20–29.
- Nho, J. H., & Yoo, S. H. (2018). Relationships among lifestyle, depression, anxiety, and reproductive health in female university students. *Korean Journal of Women Health Nursing*, 24(1).
- Passoni, P., Inzoli, A., De Ponti, E., Polizzi, S., Ceccherelli, A., Fantauzzi, M., Procaccianti, C., Cattoni, A., Villa, S., Riva, A., Righetti, S., Landoni, F., & Fruscio, R. (2024). Association between Physical Activity and Menstrual Cycle Disorders in Young Athletes. *International Journal of Sports Medicine*, 45(7), 543–548.
- Poitras, M., Shearзад, F., Qureshi, A. F., Blackburn, C., & Plamondon, H. (2024). Bloody stressed! A systematic review of the associations between adulthood psychological stress and menstrual cycle irregularity. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 163(12), 2870–2881.
- Prasai, M., Upadhyay, H. P., Panthi, S., Khadka, K., & Kuwar, R. (2023). Prevalence and Associated Factors of Menstruation Pattern Among Schools Adolescents. *Journal of College of Medical Sciences-Nepal*, 19(1).
- Prawirahardjo, S. (2016). Ilmu Kebidanan. In *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952.
- Reyza, N. F., & Sulistiawati, A. C. (2022). Hubungan Status Gizi Dengan Keteraturan Siklus Menstruasi Pada Remaja Putri Smpn 1 Rambah Tahun 2021. *Jurnal Kedokteran STM (Sains Dan Teknologi Medik)*, 5(2), 136–140.
- Simbolon, P., & Sukohar, A. (2018). Hubungan Indeks Massa Tubuh Dengan Lama Siklus Menstruasi Pada Mahasiswi Angkatan 2016 Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. *Majority*, 7(2), 164–170.
- Sinha, S., Srivastava, J., Sachan, B., & Singh, R. (2016). A study of menstrual pattern and prevalence of dysmenorrhea during menstruation among school going adolescent girls in Lucknow district, Uttar Pradesh, India. *International Journal of Community Medicine and Public Health*.
- Sopha, D. M., Haeriyah, S., & Yatsi Tangerang, S. (2021). Hubungan Tingkat Stress Dan Status Gizi Dengan Ketidakteraturan Siklus Menstruasi Pada Remaja SMK Kesehatan Utama Insani. *Nusantara Hasana Journal*, 1(2).

- Sukohar, A., Putri, M. D., Daulay, S. A., & Carolia, N. (2025). *Perbedaan Derajat Insomnia Antara Mahasiswi Tingkat Akhir Program Studi Pendidikan Dokter Dengan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung*. *12(5)*, 922–930.
- Varghese, L., Saji, A., & Bose, P. (2022). Menstrual irregularities and related risk factors among adolescent girls. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*, *11(8)*.
- Wang, Z. Y., Liu, Z. Z., Jia, C. X., & Liu, X. (2019). Age at menarche, menstrual problems, and daytime sleepiness in Chinese adolescent girls. *Sleep*, *42(6)*.
- Winengsih, E., Fitriani, D. ayu, Stelata, A., & Sugiharti, I. (2023). Hubungan Aktivitas Fisik Dengan Siklus Menstruasi Pada Mahasiswa Kebidanan Universitas Bhakti Kencana Bandung. *Fakultas Ilmu Kesehatan, Prodi Kebidanan, Universitas Bhakti Kencana, Bandung, Indonesia*, *11(2)*, 630.
- Yani, W. L., & Rahayu, B. (2023). Hubungan Status Gizi Dengan Siklus Menstruasi Pada Remaja Putri Di Sma Muhammadiyah 7 Yogyakarta. *Jurnal Kebidanan*, *12(2)*, 68–74.
- Yolandiani, R. P. (2020). Faktor–faktor yang mempengaruhi ketidakteraturan Siklus menstruasi pada remaja Literatur Review Ranny Patria Yolandiani 1, Lili Fajria 2, Zifriyanthi. *Jurnal Keperawatan Indonesia*, *68*.