

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN GANDARUSA  
(*Justicia gendarussa Burm F.*) TERHADAP KADAR HORMON  
ESTRADIOL ENDOGEN DAN PERUBAHAN GAMBARAN  
HISTOLOGI FOLIKEL ANTRAL OVARIUM  
PADA MENCIT BETINA**

**TESIS**

**Untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat Sarjana S-2**



**Magister Ilmu Biomedik**

**Ni'mah Hidayatul Laili**

**15 501 0060**

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG SEMARANG  
2018**

**TESIS**  
**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN GANDARUSA**  
**(*Justicia gendarussa Burm F.*) TERHADAP KADAR HORMON**  
**ESTRADIOL ENDOGEN DAN PERUBAHAN GAMBARAN**  
**HISTOLOGI FOLIKEL ANTRAL OVARIUM**  
**PADA MENCIT BETINA**

Disusun oleh  
Ni'mah Hidayatul Laili  
MBK. 15 501 0060

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
pada tanggal 23 Oktober 2017  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,  
Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing-II

Prof. Dr.dr.H. Taufiq R.Nasihun, M.Kes, Sp.And

Dr.Ir.Hj.Titiik Sumarawati, M.Kes

NIK. 220186022

NIK.2230198045

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

Prof. Dr.dr.H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, SpAnd

NIK. 220186022



## PERNYATAAN

Dalam ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum / tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, Oktober 2017



( Ni mah Hidayatul Laili )

## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas

Nama : Ni'mah HidayatulLaili  
Tempat / tanggalLahir : Karanganyar, 11 Januari 1992  
Agama : Islam  
JenisKelamin : Perempuan

### B. RiwayatPendidikan :

1. SDN Potronayan 01 : Lulus tahun 2004
2. SMP AL – MUAYYAD Surakarta : Lulus tahun 2007
3. SMA AL-MUAYYAD Surakarta : Lulus tahun 2010
4. D III KebidananEstuUtomoBoyolali : Lulus tahun 2013
5. D IV StikesKaryaHusada Semarang: Lulus tahun 2014
6. Magister IlmuBiomedik FK UNISSULA ( 2015 – sekarang )

### C. RiwayatPekerjaan :

Klinik AN-NUR, Surakarta

### D. RiwayatKeluarga :

1. Nama Orang Tua  
Ayah :H. MaryonoS.Pd  
Ibu : Hj. SriyatiM.Pd
2. NamaSuami : Arif WahibNuryanta Amd.Rad
3. NamaAnak : Arsyfa HibatillahWahib

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada ALLAH SWT atas segala rahmat, anugerah dan pertolongannya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Tesis dengan judul “Efek Pemberian Ekstrak Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa, Burm f.*) terhadap Kadar Hormon Estradiol Endogen dan Perubahan Gambaran Histologi Folikel Antral Ovarium pada Mencit Betina”. Tesis ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Magister Ilmu Biomedik dari Program Studi Magister Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Tesis ini dapat diselesaikan atas bimbingan, arahan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih dengan ketulusan serta rasa hormat kepada:

1. DR. dr. Setyo Trisandi, SH, Sp.F selaku Dekan Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Prof. DR. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp.And selaku Ketua Program Magister Ilmu Biomedis Fakultas Kedokteran Unissula, Pembimbing I
3. Dr. Ir. Hj. Titi Sumarawati, M.Kes selaku pembimbing II
4. Dr. Drs. H. Israhanto Isradji, Msi selaku Penguji I
5. Dr. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes.PA selaku Penguji II
6. Dr. Hj. Atina Husaana, Msi.Apt selaku penguji III

Akhirnya penulis menyampaikan terima kasih yang besar kepada keluarga tercinta : Ayahanda dan Ibunda tercinta H.Maryono S.Pd dan Hj.Sriyati M.Pd, kakak dan adik-adik tersayang aunty kembar Afifah Azizah, om Irfan, Mukhlis,

Iza dan Aunty Mutiara, mamah Fatiemah El-loekman, Ulfi, Linda atas doa dan cinta kasih,dukungan dan toleransi yang sangat luar biasa. Terimakasih juga untuk Suami Arif Wahib Nuryanta, Amd.Rad dan putriku terkasih Arsyfa Hibatillah Wahib atas dukungan dan pengorbanannya menemani penulis selama menyelesaikan pendidikan.

SemogaALLAH SWTsenantiasamelimpahkanrahmat-Nyakepadakita semua. Akhir kata, penulismenyadaribahwadalampenyusunanTesisinimasihjauh dari sempurna, sebab di dunia ini tidak ada yang sempurna,kecuali Allah SWT semata. Karenaitu, penulis mengharapkan saran dan kritik demi perbaikan di masa yang akan datang.

Semarang,Oktober2017

Ni'mah HidayatulLaili

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR SINGKATAN .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
ABSTRAK.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1. LatarBelakang .....	1
1.2. RumusanMasalah .....	4
1.3. TujuanPenelitian .....	4
1.4. OriginalitasPenelitian.....	5
1.5. ManfaatPenelitian .....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	8
2.1. Hormon Estrogen .....	8
2.1.1. Hormon Estrogen .....	8
2.1.2. Efek Estrogen Sebagai TSH.....	9
2.1.3. Menopause .....	10
2.1.4. Tahap – tahap Menopause .....	12
2.2. Histologi Ovarium.....	13
2.3. Daun Gandarusa .....	25
2.4. HubunganantaraDaunGandarusadenganMeningkatnyaHormo n Estrogen danHistologiOvarium.....	33

BAB III	KERANGKA TEORI, KERANGKAN KONSEP DAN HIPOTESIS	36
3.1.	KerangkaTeori.....	36
3.2.	KerangkaKonsep .....	38
3.3.	HipotesisPenelitian.....	39
BAB IV	METODE PENELITIAN .....	40
4.1.	JenisdanDesainPenelitian .....	40
4.2.	PopulasidanSampelPenelitian .....	41
4.3.	VariabelPenelitian .....	41
4.4.	DefinisiOperasionaldanSkalaPengukuran.....	42
4.5.	Bahan/Materipenelitian .....	43
4.6.	Cara PenelitiandanAlurKerjaPenelitian .....	44
4.7.	TeknikPengumpulan Data .....	49
4.8.	Analisis Data .....	49
4.9.	JadwalPelaksanaannyaPenelitian .....	50
BAB V.	HASIL DAN PEMBAHASAN .....	51
5.1.	Hasil .....	51
5.2.	Pembahasan .....	57
BAB VI.	KESIMPULAN DAN SARAN .....	63
6.1.	Kesimpulan .....	63
6.2.	Saran .....	63
DAFTAR PUSTAKA	.....	64
LAMPIRAN	.....	67

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Originalitas Penelitian .....	5
Tabel 5.1	Data Hasil Perlakuan .....	50
Tabel 5.2	Uji Post-Hoc Variabel Hormon Estradiol Endogen.....	55
Tabel 5.3	Uji Post-Hoc Variabel Histologi Folikel Antral Ovarium kiri.....	55
Tabel 5.4	Uji Post-Hoc Variabel Histologi Folikel Antral Ovarium kanan...	55
Tabel 5.5	Data Korelasi Hormon Estradiol Endogen dengan Ovarium Kiri.....	56
Tabel 5.6	Data Korelasi Hormon Estradiol Endogen dengan Ovarium kanan.	56

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Ovarium.....	13
Gambar 2.2	Folikel Primer .....	17
Gambar 2.3	FolikelAntral.....	21
Gambar 2.4	TanamanGandarusa .....	26
Gambar 3.1	Kerangka Teori.....	38
Gambar 3.2	Bagankonseppenelitian.....	39
Gambar 4.1	DesainPenelitian .....	40
Gambar 4.2	BaganProsedurPenelitian.....	48
Gambar 5.1	Histologi Ovarium Kiri Mencit.....	51
Gambar 5.2	Histologi Ovarium Kanan Mencit.....	52

## DAFTAR SINGKATAN

ATP : *Adenosinatrifosfat*

DNA : *Deoxyribo Nucleic Acid*

FSH : *follicle stimulating hormone*

HRT : *Hormon replacement therapy*

HSD : *Hidroxy Steroid Dehydrogenase*

LH : *luteinising hormone*

RE : *Receptor Estrogen*

TSH : *TerapiSulihHormon*

REa : *Receptor Estrogen Alfa*

## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Ethical Clearance
- Lampiran 2. Surat Balasan Permohonan Ijin Penelitian di laboratorium PAU  
UGM Yogyakarta
- Lampiran 3. Surat balasan permohonan Ijin Penelitian di laboratorium Patologi  
Anatomi RSI Sultan Agung Semarang
- Lampiran 4. Gambaran Histologi Folikel Antral Ovarium Kanan Kiri Mencit
- Lampiran 5. Hasil Pembacaan Histologi Folikel Antral Ovarium Mencit
- Lampiran 6. Hasil Uji Toksonomi Daun Gandarusa
- Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian
- Lampiran 8. Hasil Analisa Data
- Lampiran 9. Hasil Pemeriksaan Kadar Estradiol

## ABSTRAK

Penuaan merupakan proses alamiah yang dilalui oleh setiap makhluk hidup. Kondisi fisiologis pada wanita yang telah memasuki proses penuaan (*aging*) dapat ditandai dengan terjadinya premenopause dan menopause. Daun gandarusa mengandung isoflavon yang terdapat didalam flavanoid yang bertindak sebagai fitoestrogen. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun gandarusa terhadap peningkatan kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada mencit betina.

Penelitian ini adalah penelitian *true experimental* dengan menggunakan *posttest only control group design*. Populasi yang digunakan adalah mencit betina berumur 16-17 bulan dengan berat badan antara 18-35 gram. Total jumlah sampel yang digunakan 24 ekor. Pemilihan sampel secara random, penelitian dilakukan selama 28 hari dan dibagi menjadi 4 kelompok. Kelompok kontrol diberikan 0,48 ml aquadest dan kelompok perlakuan masing-masing diberikan ekstrak daun gandarusa dengan volume 0.48 ml peroral 2 kali sehari sesuai dosis. Setelah perlakuan dilakukan pembedahan, pembuatan preparat histologi ovarium, dan pengamatan menggunakan mikroskop. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan Uji Post Hoc LSD.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan peningkatan kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium secara bermakna dengan nilai ( $p < 0,05$ ) disebabkan daun gandarusa bersifat fitoestrogen dan antioksidan alami.

Simpulan: pemberian ekstrak daun gandarusa meningkatkan kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada mencit betina menjadi melebar dan jumlahnya menjadi banyak.

**Kata kunci: ekstrak daun gandarusa, estradiol endogen, histologi ovarium.**

## ABSTRACT

Aging involves the natural process traversed by any creatures. Physiological state in a woman who has entered an aging process (aging) can be characterized by the occurrence of premenopause and menopause. Leaves of *Gandarus* containing isoflavones contained in flavanoids acting as phytoestrogens. The purpose of this research is to find the effects of the leaves of *Gandarus* on elevated levels of endogenous estradiol hormones and to change the histology of antral follicles in the ovary of female mice.

This research is a true experimental research using a posttest only control group design. The population used is old mice 16-17 months with a weight between 18-35 grams. The total number of samples used is 24 mice. A random sampling method was used. The research was conducted for 28 days and divided into 4 groups. The control group was treated with 0.48 ml of distilled water, and each treatment group was given 0.48 ml of orally extracted leaves twice a day according to the dose. After the surgery, ovarian histology preparations were made, and observations were conducted using a microscope. The data obtained were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) followed by a Post Hoc LSD test.

Based on the research, it was shown that there were increased levels of endogenous estradiol hormones and a significant change in the histology of antral follicles in the ovary ( $p < 0,05$ ) because the leaves of *Gandarus* are phytoestrogens and antioxidants.

Conclusions: the provision of *Gandarus* leaf extract increases the level of endogenous estradiol hormones and changes the histology of antral follicles in the ovary of female mice, which becomes dilated.

**Key words : *Gandarus* leaves extract, endogenous estradiol, ovary histology.**

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Penuaan merupakan proses alamiah yang dilalui oleh setiap makhluk hidup bila mempunyai umur panjang, sekaligus sebagai proses yang sangat ditakuti oleh kebanyakan orang. Kondisi fisiologis pada wanita yang telah memasuki proses penuaan (*aging*) dapat ditandai dengan terjadinya premenopause dan menopause. Ketika terjadi menopause akan menimbulkan keluhan yang berbeda pada tiap orang, keluhan menopause disebut sindrom menopause yang meliputi; gejala panas (*Hot Flushes*), keringat di malam hari (*night sweat*), kekeringan vagina (*dryness vaginal*), penurunan daya ingat, kurang tidur (*insomnia*), rasa cemas (*depresi*).<sup>(1)</sup> Keluhan menopause selama ini dikurangi dengan cara memberikan hormon estrogen secara sintetis yang dapat memberikan efek samping seperti penyakit *cancer mammae*.<sup>(2)</sup> Daun Gandarusa memiliki kandungan isoflavon yang merupakan bahan aktif yang berpengaruh pada hormon estradiol dan testosteron. Daun Gandarusa merupakan obat herbal yang bisa meningkatkan hormon estradiol endogen dan folikel antral ovarium, tetapi bukti ilmiahnya belum ada.

Wanita pada masa perimenopause berdasarkan tinjauan psikologis mengalami gangguan fisik, seksual, gangguan psikologis dan sosial. Safrina melaporkan bahwa perubahan fisik yang dirasakan responden pada masa perimenopause meliputi ketidakaturan siklus menstruasi 64,1%, rasa cepat lelah 56,3%, penurunan keinginan seksual 51,6%, berat badan bertambah 42,2%, sulit

tidur 40,6%, perubahan pada kulit 37,5%, rasa panas pada wajah (*hot flushes*) 31,3% dan keringat berlebih di malam hari 17,2%. Perubahan psikologi yang terjadi saat perimenopause meliputi ingatan menurun 57,8%, mudah tersinggung 39,1%, rasa gelisah yang berlebih 26,6%, kecemasan 25%, merasa tidak berharga 15,6%, merasa tidak cantik lagi 14,1% akibatnya tidak percaya diri dan rasa takut menjadi tua 12,5% yang berakibat perceraian meningkat.<sup>(2)</sup>

Penelitian ini merupakan pengembangan dari beberapa penelitian sebelumnya diantaranya adalah Lyra Febrianda yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun gandarusa terhadap spermatogenesis mencit efektif mereduksi jumlah sel spermatosit, sel spermatid serta spermatozoa yang memiliki tudung akrosom utuh.<sup>(3)</sup> Lukitawati, Nita; Fetri Lestari melakukan penelitian yang memperoleh hasil bahwa Pemberian ekstrak etanol 95% daun gandarusa dapat mempengaruhi indeks bobot organ reproduksi mencit dilihat dari adanya perbedaan bermakna antara bobot organ testis, epididimis dan vas different, kualitas kelompok kontrol dan kelompok uji.<sup>(4)</sup> Hasil penelitian Rusmiatik menunjukkan bahwa ekstrak daun gandarusa meningkatkan jumlah folikel sekunder, dan mengurangi terbentuknya jumlah kista fungsional. Peningkatan jumlah folikel sekunder, dan mengurangi terbentuknya kista fungsional secara bermakna pada kelompok perlakuan, disebabkan kemampuan ekstrak daun gandarusa sebagai fitoestrogen dan antioksidan alami menghambat terbentuknya radikal bebas, sehingga melindungi DNA dan sel dari kerusakan.<sup>(5)</sup>

Prajogo dalam penelitian menunjukkan bahwa daun gandarusa mengandung 12 komponen flavonoid, dengan komponen mayor 6,8-di- $\alpha$ -L-arabinopiranosil-

4,5,7-trihidroksiflavan atau 6,8-diarabinosilapigenin atau Gendarusin A dengan aktivitas mencegah penetrasi spermatozoa ke ovum.<sup>(6)</sup> Kandungan Isoflavon di dalam flavonoid merupakan bahan aktif yang berpengaruh pada hormon estrogen dan testosteron.<sup>(7)</sup> Flavonoid mengacu pada fitoestrogen karena ditemukan dari tumbuhan (fito) dan kemampuannya untuk bereaksi seperti hormon estrogen pada tubuh manusia.<sup>(8)</sup> Mekanisme kerja fitoestrogen dalam jaringan adalah dengan berikatan pada reseptor estrogen dan mencegah pengikatan estrogen alami, hal ini menyebabkan isoflavon dapat berikatan dengan *Receptor Estrogen* (RE), di *hipofise anterior mensintesis GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone)* untuk menstimulus sekresi FSH (*Folicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*). Hipotalamus dan hipofise mempunyai reseptor androgen dan estrogen. Namun afinitas RE ligan tersebut lebih rendah dibanding estrogen endogen sel epitel dari jaringan reproduksi seperti ovarium.

Mekanisme aksi biologis estrogen adalah kemampuannya untuk bertindak sebagai estrogen agonis (menyerupai estrogen) yang dapat berikatan dengan RE dan menstimulasi respon estrogen, atau bertindak sebagai estrogen antagonis (inhibitor aktivitas estrogen) yang dapat berikatan dengan RE namun menghambat respon estrogen. Isoflavon bersifat antagonis (inhibitor aktivitas estrogen) ketika kadar estrogen tinggi, sebaliknya isoflavon bersifat agonis ketika kadar estrogen rendah. Isoflavon menunjukkan aktivitas biologi yang penting diantaranya meningkatkan hormon estradiol estrogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium. Hormon estrogen yang dihasilkan juga meningkat karena bertambahnya jumlah sel folikel penghasil estrogen.<sup>(9)</sup> Efek peningkatan hormon

estrogen terhadap uterus menyebabkan proliferasi endometrium dan perkembangan kelenjar endometrium yang digunakan sebagai nutrisi bagi ovum yang berimplantasi, sehingga dapat menurunkan keluhan fisik seperti keluarnya keringat, suhu tubuh meningkat, pendarahan tidak teratur, dan osteoporosis, serta keluhan psikis seperti gugup, insomnia, sakit kepala dan depresi.<sup>(10)</sup> Mengingat makin besarnya pengaruh isoflavon yang terkandung dalam daun gandarusa terhadap peningkatan kadar hormon estradiol estrogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium, maka muncul pertanyaan apakah pemberian ekstrak daun gandarusa berpengaruh terhadap peningkatan kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada mencit betina?

## **1.2. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat disusun rumusan masalah: bagaimana efek pemberian ekstrak daun gandarusa terhadap peningkatan kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada mencit betina?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun gandarusa terhadap peningkatan kadar hormon endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada mencit betina.

### 1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.3. Tujuan khusus penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan efek pemberian ekstrak daun gandarusa terhadap peningkatan kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada mencit betina.

### 1.4. Originalitas Penelitian

Penelitian ini berjudul “Efek pemberian ekstrak daun gandarusa terhadap peningkatan hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium. Metode penelitian yang digunakan yaitu true experimental dengan rancangan *post test only control group design*, yang dilakukan selama 28 hari. Adapun penelitian penunjang yang telah ditemukan peneliti sebagai berikut :

Nama,Tahun Penelitian	Judul	Metode	Hasil
Rusmiatik (2013).	<i>Pemberian Ekstrak Daun Gandarusa (Justicia gendarusa, Burm f.) Menghambat Proses Penuaan Ovarium pada Marmut.</i>	Penelitian menggunakan rancangan <i>true experimental</i> dengan menggunakan <i>post test only control group design</i> .	Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun gandarusa meningkatkan jumlah folikel sekunder, dan mengurangi terbentuknya jumlah kista fungsional.
Lyra Febrianda (2012).	<i>Efek Pemberian ekstrak daun gandarusa per oral terhadap spermatogenesis mencit dan keutuhan tudung akrosom spermatozoa mencit.</i>	Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental ( <i>True experimental research</i> ) yakni rancangan <i>post test</i>	Pemberian ekstrak daun gandarusa terhadap spermatogenesis mencit efektif

		dengan kelompok kontrol ( <i>Post test group with control</i> ).	mereduksi jumlah sel spermatosit, sel spermatid serta spermatozoa yang memiliki tudung akrosom utuh.
Lukitawati, Nita; Fetri Lestari (2008).	<i>Efek ekstrak etanol daun gandarusa terhadap sistem reproduksi dan kualitas spermatozoa serta reverseibilitasnya pada mencit jantan galur swiss Webster.</i>	Jenis penelitian ini adalah kuantitatif.	Pemberian ekstrak etanol 95 % daun gandarusa dapat mempengaruhi indeks bobot organ reproduksi mencit dilihat dari adanya perbedaan bermakna antara bobot organ testis, epididimis dan vas different, kualitas kelompok kontrol dan kelompok uji.

## 1.5. Manfaat Penelitian

### 1.5.1. Manfaat Teoritis

1. Memberi informasi ilmiah mengenai pemberian ekstrak daun gandarusa terhadap peningkatan hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium.

2. Memberikan informasi tentang khasanah keilmuan pada bidang biologi reproduksi serta menjadi landasan bagi penelitian selanjutnya.

#### **1.5.2. Manfaat Praktis**

1. Bila terbukti ekstrak daun gandarusa dapat meningkatkan hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium, dapat dilanjutkan untuk uji klinis ketahap berikutnya atau penelitian lain pada manusia.
2. Memberi informasi kepada masyarakat luas dan menambah pengetahuan tentang daun gandarusa yang bermanfaat dalam pengembangan ilmu reproduksi yang kemudian dapat digunakan sebagai obat kontrasepsi .
3. Mendukung pengembangan penelitian hormon sebagai alternatif pengganti *Hormone replacement therapy (HRT)*.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Hormon Estrogen**

##### **2.1.1. Pengertian Hormon Estradiol Endogen**

Estrogen dan progesterone adalah hormon-hormon yang dihasilkan oleh ovarium. Estrogen terutama meningkatkan proliferasi dan pertumbuhan sel-sel spesifik pada tubuh dan bertanggung jawab akan perkembangan sebagian besar sifat seksual sekunder wanita. Sedangkan progesterone hampir seluruhnya berkaitan dengan persiapan akhir uterus untuk kehamilan dan kelenjar *mammae* untuk laktasi.<sup>(11)</sup>

Pada wanita normal yang tidak hamil, estrogen disekresikan dalam jumlah besar oleh ovarium dan jumlah kecil oleh korteks adrenal. Pada kehamilan, estrogen juga disekresi oleh plasenta. Ada 3 yang terdapat dalam jumlah yang bermakna, yaitu beta estradiol, estron, dan estriol. Beta estradiol merupakan estrogen utama yang disekresi oleh ovarium. Estron sebagian besar disekresi oleh korteks adrenal ginjal dan sel teka ovarium. Estriol adalah estrogen yang lemah, merupakan produk oksidasi estradiol dan estron, perubahan ini terjadi pada hati. Potensi beta estradiol 12 kali potensi estron dan 80 kali potensi estriol, sehingga beta estradiol dianggap sebagai estrogen utama.<sup>(11)</sup>

Estrogen pada tulang menyebabkan aktivitas osteoblastik dan penyatuan epifisis dini dengan diafisis tulang panjang. Pada pelvis menyebabkan perluasan pelvis. Pada kulit menyebabkan sifat lembut dan halus.<sup>(11)</sup> Estrogen berperan

sebagai pemberi efek umpan balik negatif yang kuat menekan gonadotropin (FSH dan LH) sehingga pertumbuhan folikel terhambat. Efek ini yang diambil sebagai mekanisme kerja obat anti fertilitas, dengan estrogenik sintetik menghambat ovulasi melalui efek pada hipotalamus, yang kemudian mengakibatkan supresi pada FSH dan LH kelenjar hipofise.<sup>(11)</sup>

#### 2.1.2. Efek Estrogen Sebagai Terapi Sulih Hormon (TSH).

Kemanjuran TSH dalam mengatasi keluhan menopause seperti vasomotor, psikofisiologik dan urogenital menempatkan TSH sebagai pengobatan kunci bagi menopause.<sup>(11)</sup> Untuk TSH tersedia berbagai jenis estrogen dan yang dianjurkan adalah estrogen alamiah. Disebut alamiah karena estrogen tersebut memiliki sifat dan cara kerja yang sama dengan hormon yang di dalam tubuh wanita. Yang termasuk estrogen alamiah adalah estradiol, estron, estron sulfat, estriol dan ester estradiol seperti estradiol benzoate, estradiol valerat, atau estradiol suksinat.<sup>(12)</sup>

Estrogen sintetik seperti etinil estradiol dan mestranol sangat tidak dianjurkan penggunaannya sebagai TSH karena estrogen jenis ini sangat memberatkan fungsi hati dan efek sampingnya banyak. Misalnya etinil estradiol memicu pembentukan angioten sinogen 35.000 kali lebih kuat dibanding estrogen alamiah, sehingga dapat meningkatkan tekanan darah. Efeknya terhadap proliferasi endometrium juga sangat besar. Estradiol merupakan estrogen utama wanita usia reproduksi, sehingga dibuat estrogen alamiah yang didalam tubuh akan diubah menjadi estradiol. Yang paling efektif adalah estradiol dan estradiol valerat.<sup>(12)</sup>

### 2.1.3 Menopause

Menopause adalah penghentian daur haid (menstruasi) seorang wanita pada usia sekitar 45 sampai 50 tahun untuk selamanya. Berhentinya siklus menstruasi untuk selamanya bagi wanita menopause disebabkan oleh jumlah folikel yang mengalami atresia terus meningkat, sampai tidak tersedia lagi folikel,serta dalam 12 bulan terakhir mengalami amenorea, dan bukan disebabkan oleh keadaan patologis.<sup>(46)</sup>

Berhentinya haid dapat didahului oleh siklus haid yang lebih panjang, dengan perdarahan yang berkurang. Faktor fisik dan psikis mempengaruhi kapan terjadinya menopause. Demikian juga dengan adanya penyakit tertentu,operasi indung telur, stres, obat-obatan, dan gaya hidup merupakan contoh faktor yang mempengaruhi cepat lambatnya terjadi menopause.

Berbagai gejala yang dirasakan pada masa menopause berdasarkan MRS(*Menopause Rating Scale*) dari Greene,yang dikenal dengan istilah Skala Klimakterik Greene, dapat dikelompokkan sebagai gejala psikologik seperti jantung berdebar, perasaan tegang atau tertekan, sulit tidur, mudah tersinggung, mudah panik, sukar berkonsentrasi, mudah lelah, hilangnya minat pada banyakhal, perasaan tidak bahagia, mudah menangis. Selain itu yakni gejala somatic seperti perasaan kepala pusing, atau badan terasa tertekan, sebagian tubuh terasa tertusuk duri, sakit kepala, nyeri otot atau persendian, tangan atau kaki terasa sakit, dan kesukaran bernapas, serta gejala vasomotor yaitu Gejolak panas(*hotflashes*) dan berkeringat di malam hari.<sup>(47)</sup>

Pada saat menopause Jumlah folikel yang mengalami atresia terus

meningkat. Pada saat menopause Jumlah folikel yang mengalami atresia terus meningkat, sampai suatu ketika tidak tersedia lagi folikel yang cukup. Produksi estrogen pun berkurang dan tidak terjadi haid lagi yang berakhir dengan terjadinya menopause. Oleh karena itu, menopause diartikan sebagai haid alami terakhir. Bila pada usia perimenopause ditemukan kadar FSH dan estradiol yang bervariasi, maka setelah memasuki usia menopause akan ditemukan kadar FSH tinggi ( $>40$  mIU/ml). Kadar estradiol pada awal menopause dapat rendah bagi sebagian wanita, sedangkan pada sebagian wanita lain akan tinggi apalagi pada wanita gemuk akibat aromatisasi androgen menjadi estrogen dalam jaringan lemak. Diagnosis menopause merupakan diagnosis retrospektif, bila seorang wanita tidak haid selama 12 bulan dan dijumpai kadar FSH darah  $>40$  mIU/ml dan kadar estradiol  $<30$  pg/ml maka dapat dikatakan wanita tersebut telah mengalami menopause.<sup>(46)</sup>

Memasuki masa perimenopause aktivitas folikel dalam ovarium mulai berkurang. Ketika ovarium tidak menghasilkan ovum dan berhenti memproduksi estradiol, kelenjar hipofisa berusaha merangsang ovarium untuk menghasilkan estrogen, sehingga terjadi peningkatan produksi FSH.<sup>(48)</sup> Sekitar 3-4 tahun sebelum menopause, kadar FSH mulai meningkat sedikit, sedangkan produksi estrogen, inhibin, dan progesteron ovarium menurun.<sup>(49)</sup>

Selama menopause, penurunan fungsi estrogen dan inhibin ovarium mengakibatkan berkurangnya sinyal umpan balik negatif terhadap hipofisis. Inhibin berfungsi untuk meregulasi FSH, sehingga kadar FSH

lebih banyak daripada kadar LH .<sup>(49)</sup> Ovarium pascamenopause berukuran kecil dan tidak berisi folikel.<sup>(49)</sup>

#### 2.1.4 Tahap-Tahap Menopause

Penurunan fungsi generatif dari ovarium menyebabkan peralihan dari fase reproduksi menuju fase usia tua (klimakterik), disebut juga fase peralihan antara pramenopause dan pascamenopause. Wanita yang mengalami klimakterium akan mengalami penurunan produksi hormon estrogen.<sup>(46)</sup> Klimakterik yang dialami oleh perempuan terbagi dalam beberapa fase, yaitu:

##### 1. Premenopause (Premenopause)

Fase pramenopause merupakan awal dimulainya fase klimakterik. Fase ini dimulai pada usia 40 tahun dan ditandai dengan siklus haid yang tidak teratur, Perdarahan haid yang memanjang dan jumlah darah haid yang relatif banyak, dan kadang-kadang disertai nyeri haid.<sup>(46)</sup>

##### 2. Fase Perimenopause

Fase perimenopause merupakan fase peralihan antara fase pramenopause dan fase pascamenopause. Fase ini ditandai dengan siklus haid yang tidak teratur (ada yang >38 hari atau <18 hari), dan terjadinya perubahan ke arah menopause (antara 2-8 tahun dan 1 tahun setelah menstruasi terakhir).<sup>(46)</sup>

##### 3. Fase Menopause

Fase menopause adalah perubahan alami yang dialami seorang wanita saat siklus menstruasi terhenti. Keadaan ini sering disebut “change of life”, dan terjadi antara usia 45-55 tahun dan tidak menstruasi selama 12 bulan terakhir.<sup>(46)</sup>

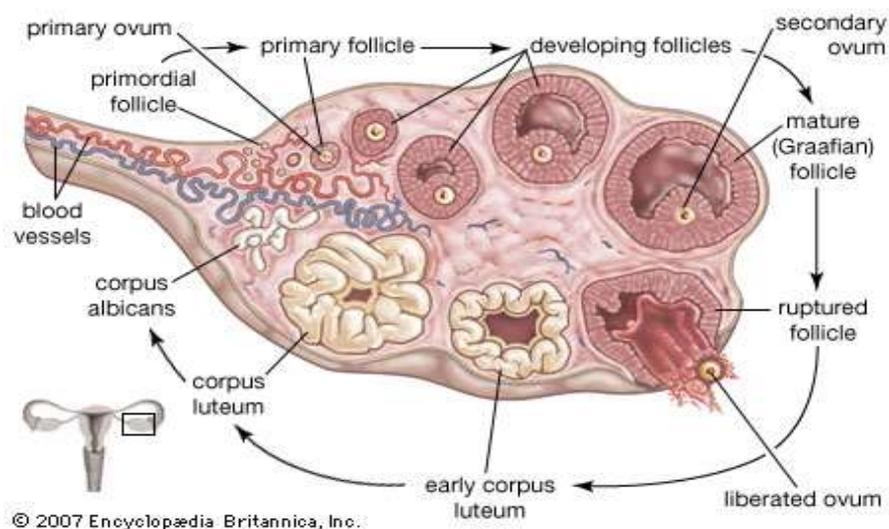
#### 4. Fase Pascamenopause (Postmenopause)

Fase pascamenopause dimulai setelah umur 60 tahun. Kelenjar adrenal merupakan sumber androgen utama bagi wanita pascamenopause.<sup>(46)</sup> Fase ini setelah menopause sampai senium yang dimulai setelah 12 bulan amenore (menstruasi terakhir).<sup>(46)</sup>

## 2.2. Histologi Ovarium

### 2.2.1. Definisi Ovarium

Sistem reproduksi wanita terdiri atas dua ovarium, dua tuba uterina, uterus, vagina dan genitalia eksterna. Ovarium merupakan suatu badan berbentuk buah kenari dengan ukuran kurang lebih panjang 3 cm, lebar 1,5 cm dan tebal 1 cm. ovarium memiliki bagian-bagian yang terdiri dari medulla dan korteks, bagian medulla ovarium mengandung jalinan vaskular yang luas di dalam jaringan ikat seluler yang longgar. Korteks merupakan tempat folikel ovarium yang mengandung oosit terutama ditemukan.<sup>(13)</sup>



Gambar 2.1.Ovarium<sup>(13)</sup>

Ovarium adalah salah satu organ sistem reproduksi wanita, sistem reproduksi terdiri dari ovarium, tuba fallopi, uterus dan vagina. Kedua ovarium terletak di kedua sisi uterus dalam rongga pelvis dengan panjang sekitar 1,5–2 inchi dan lebar < 1 inchi, ovarium akan mengecil setelah menopause. Ovarium memiliki dua fungsi yaitu: 1) Menyimpan ovum (telur) yang dilepaskan satu setiap bulan, ovum akan melalui tuba fallopi tempat fertilisasi dengan adanya sperma kemudian memasuki uterus, jika terjadi proses pembuahan (fertilisasi) ovum akan melekat (implantasi) dalam uterus dan berkembang menjadi janin (fetus), ovum yang tidak mengalami proses fertilisasi akan dikeluarkan dan terjadinya menstruasi dalam waktu 14 hari setelah ovulasi. 2) Memproduksi hormon estrogen dan progesteron, kedua hormon ini berperan terhadap pertumbuhan jaringan payudara, gambaran spesifik wanita dan mengatur siklus menstruasi.<sup>(13)</sup>

#### 2.2.2. Histologi Ovarium

Ovarium dikelilingi oleh selapis sel epitel kuboid. Sel epitel kolumnar Ovarium tersusun atas folikel dengan berbagai tingkatan perkembangan, jaringan interstisial, serta jaringan stroma yang berisi pembuluh darah, saraf, dan limfe.<sup>(14)</sup>

Folikel kecil diklasifikasi menjadi tiga, yaitu folikel kecil (*small follicles*), folikel sedang (*medium follicles*), dan folikel besar (*large follicles*). Folikel yang tidak berkembang secara berangsur mengalami atresia. Atresia tahap awal ditandai dengan sel teka interna dan sel granulosa intak, beberapa sel mulai terlepas masuk ke antrum yang masih mengandung cairan folikel. Cumulus ooporus tampak tidak utuh dan degenerasi oosit sudah berada dalam tahap lanjut. Sisa oosit dikelilingi

zona pellusida tebal, tampak didalam antrum. Atresia tahap lanjut ditandai dengan sel teka interna masih tetap utuh, tampak agak hipertropi, sel granulosa tidak ada, semua sudah dilepaskan dan direabsorpsi. Membran vitrea menebal, jaringan ikat longgar berasal dari stroma dan telah mengisi sebagian rongga folikel yang telah mengecil, yang masih mengandung cairan folikel. Atresia tahap akhir, seluruh folikel telah diganti oleh jaringan ikat.<sup>(15)</sup>

### 2.2.3. Pertumbuhan dan Perkembangan Folikel Ovarium

Epithel germinal mengelilingi ovarium. Di bawah epithel terdapat tunika albuginea yang memiliki vaskularisasi sangat sedikit. Ovarium terdiri dari korteks dan medulla. Korteks merupakan bagian fungsional ovarium yang terdiri atas jaringan konektif yang disebut stroma yang di dalamnya terdapat folikel ovarium dalam berbagai tahap perkembangan medula berada di bagian tengah ovarium, terdiri atas jaringan konektif yang kaya vaskularisasi, saraf, limfa, serta terdapat sel interstitial.<sup>(16)</sup>

Oosit primer yang bertahan hidup dikelilingi oleh sel epithelial pipih yang disebut folikel primordial. Selama masa pubertas, setiap bulannya 15-20 folikel primordial berkembang dan satu folikel diantaranya mengalami ovulasi setiap 28 hari.<sup>(17)</sup> Hal ini terjadi selama 35-40 tahun kemudian. Dalam 10-15 tahun terakhir sebelum menopause, terjadi suatu percepatan kehilangan folikel. Jumlah folikel primordial pada saat menopause mungkin akan habis atau kurang dari 100. Hal ini menyebabkan turunnya level hormon estrogen akibat berkurangnya jumlah folikel aktif, meningkatnya jumlah folikel yang mengalami atresia akibat apoptosis,

peningkatan FSH, serta penurunan level inhibin B seperti insulin-like growth factor I.<sup>(18)</sup>

Jumlah folikel yang tersedia sangat berbeda pada setiap perempuan. Oosit dan pertumbuhan folikel juga dipengaruhi oleh stress biologis seperti radikal bebas, kerusakan DNA, dan menumpuknya bahan kimia yang dihasilkan oleh proses metabolisme tubuh. Oosit selalu mengalami kendali mutu yang ketat, sehingga oosit yang mendapat kelainan akan mengalami apoptosis.<sup>(12)</sup> Saat usia lebih dari 30 tahun ovarium mulai mengecil dan jumlah kista fungsionalnya bertambah, yang mencapai puncaknya antara umur 40-45 tahun. Pada usia tersebut tidak jarang ditemukan hiperplasia stroma ovarium, dan setelah menopause akan berkurang dimana stroma ovarium mengalami fibrotik. Meskipun telah menghentikan fungsinya, ovarium masih tetap sebagai organ endokrin, dimana sel-sel interstitial dan sel-sel stromanya memproduksi testosteron dan androstenedion, serta estradiol dan progesteron dalam jumlah kecil.<sup>(12)</sup>

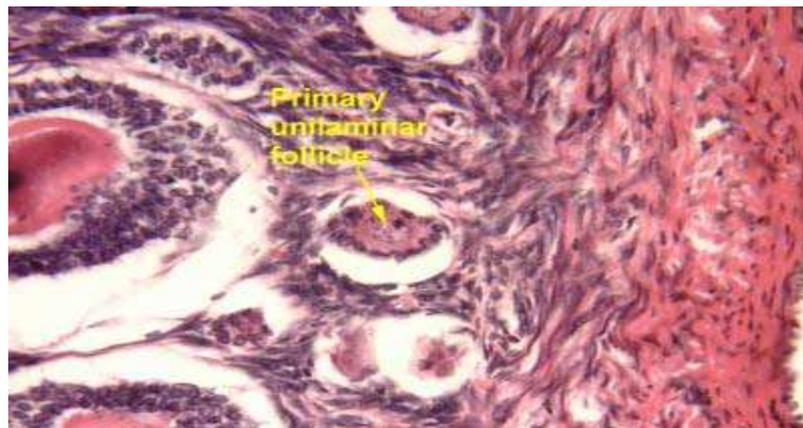
Folikel di korteks ovarium seluruhnya berada pada tahap folikel primordial sebelum mencapai masa pubertas. Oosit berhenti berkembang sampai berada pada stadium diploten. Oosit tersebut dikelilingi oleh selapis sel granulosa pipih dan tidak memiliki suplai pembuluh darah. Dipisahkan dari stroma ovarium oleh lamina basalis. Folikel ini tidak dipengaruhi oleh gonadotropin. Tetapi, diferensiasi dan proliferasinya dipicu oleh faktor lokal.<sup>(19)</sup>

Perkembangan sel folikuler dan oosit terdiri dari lima tahap. Tahapan yang dimaksud meliputi primer (folikel primer), sekunder (folikel sekunder), tertier

atau *early antral phase*, *antral*, dan *graafian follicle*. Menurut Bulun dan Adashi,<sup>(20)</sup> tahap perkembangan folikel ovarium sebagai berikut.

#### 1. Folikel Primer (100-150 $\mu\text{m}$ )

Perkembangan folikel primer merupakan stadium pertama pertumbuhan folikel. Oosit mulai tumbuh, terbentuk zona pellusida yang mengelilingi oosit. Zona pellusida tersebut disintesis oleh oosit dan sel granulosa yang terletak diantara oosit dan lapisan sel granulosa. Pada akhir stadium ini, sel-sel granulos mengalami perubahan morfologi dari skuamosa menjadi kuboidal.



Gambar 2.2 Folikel Primer<sup>(20)</sup>

Folikel primer yang berasal dari satu sel epitel benih yang membelah diri. Sel yang nantinya akan menjadi ovum berada ditengah-tengah dikelilingi oleh sel-sel kecil hasil pembelahan tadi yang nantinya akan berkembang menjadi sel granulosa. Stadium pertama pertumbuhan folikel adalah pembesaran ovum yang diikuti oleh perkembangan lapisan-lapisan sel granulosa sekitar ovum.<sup>(20)</sup>

## 2. Folikel sekunder

Diameter oosit mencapai 200  $\mu\text{m}$ . Pertumbuhan folikel meliputi proliferasi sel-sel granulosa, dan terbentuknya sel-sel teka merupakan perubahan ke arah folikel sekunder. Dengan perkembangan sel teka, folikel memperoleh suplai darahnya sendiri meskipun lapisan sel granulosa tetap avaskuler. Sel-sel granulosa membentuk reseptor-resptor *follicle stimulating hormone* (FSH), estrogen, dan androgen.<sup>(21)</sup>

Menurut Garner and Hiatt, pada akhir tahap perkembangan folikel sekunder sel-sel stroma membesar dan kapiler-kapiler memasuki teka interna untuk memberi nutrisi kepada teka interna dan sel-sel granulosa yang vaskular. Sebagian besar folikel yang mencapai perkembangan pada tahap ini mengalami atresia. Tetapi, beberapa sel granulosa tidak mengalami degenerasi dan membentuk kelenjar interstitial yang mensekresi androgen.<sup>(16)</sup>

Folikel sekunder terjadi pada waktu hewan betina telah lahir dan menjalani proses pendewasaan tubuh. Folikel sekunder ini bentuknya lebih besar karena jumlah sel-sel granulosa lebih banyak, ovumnya telah memiliki pembungkus tipis yang disebut dengan membrana vitelin, apabila diluar membran vitelin sudah terdapat satu lagi membran yang lebih tebal yang disebut dengan zona pelusida. Selapis tebal *zona pellucida* mengelilingi oosit yang tersusun paling sedikit 3 glikoprotein yang berbeda. Oosit dan sel-sel folikular (sel-sel granulosa) memberikan kontribusi pada sintesis zona. Pada akhir tahap perkembangan ini, beberapa lapisan dari sel-sel yang menyerupai

jaringan ikat dibentuk di sekitar *lamina basalis* yang nantinya disebut sebagai lapisan *teca*.<sup>(21)</sup>

### 3. Folikel tertier

Pertumbuhan menjadi folikel tertier ini terjadi pada waktu hewan menjadi dewasa dan dilanjutkan pada siklus birahi. Folikel tertier ditandai dengan ukuran yang lebih besar dari pada folikel sekunder dan letaknya lebih jauh dari korteks. Selain itu pada folikel tertier juga ditandai dengan terbentuknya antrum. Dengan berlanjutnya perkembangan folikel tertier, maka akan terbentuk dua lapisan sel teka yaitu lapisan dalam teka interna yang berdifferentiasi di dalam sel *teca interstitial* dan lapisan luar teka eksterna yang berdifferentiasi menjadi sel otot polos. Sel teka berasal dari stroma ovarium dan segera bersifat *epitheloid* dan berfungsi menyekresi bagian terbesar esterogen, sedangkan sel-sel granulosa akan menyekresikan progesteron.<sup>(21)</sup>

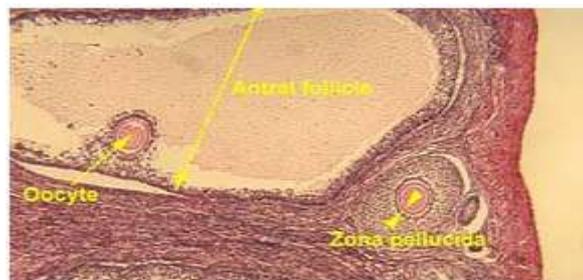
Teka eksterna terdiri dari sel otot polos yang tersusun secara konsentris, yang mana dipersarafi oleh saraf otonom. Teka interna mengandung kumpulan dari sel-sel epitel besar yang disebut sel teka interstitial. Sel teka interstitial memiliki reseptor sel untuk LH dan insulin. Sebagai respon terhadap stimulasi LH dan insulin, sel tersebut akan menghasilkan kadar androgen tinggi, umumnya androstenedion. Teka interna banyak menerima vaskularisasi yang berasal dari jaringan kapiler longgar yang mengelilingi folikel Graaf saat proses pertumbuhan.

Folikel tertier atau *early antral phase* ditandai dengan pembentukanebuah antrum atau rongga dalam folikel. Cairan antrum mengandung steroid, protein, elektrolit, dan proteoglycans. Di bawah pengaruh FSH, sel-sel granulosamulai berdiferensiasi membentuk membran periantral, cumulus oophorus, dan lapisan corona radiata. Sel granulosa mensekresi aktivin dan meningkatkan ekspresi P450 aromatase karena stimulasi FSH. Fungsi aktivin adalah meningkatkan ekspresi gen reseptor FSH di sel granulosa dan mempercepat folikulogenesis. Di sisi lain, sel granulosa juga mensekresi inhibin. Inhibin terlibat dalam lengkung umpan balik negatif yang menghambat hipofise mensekresi FSH. Pertumbuhan folikel selama fase ini karena mitosis sel granulosa akibat stimulasi FSH. Bila tidak terdapat FSH, folikel akan mengalami atresia.<sup>(21)</sup>

Atas pengaruh FSH dan estrogen, sel-sel teka interna mendapatkan reseptor LH. Di bawah pengaruh LH, sel teka interna meningkatkan jumlah reseptor LH dan memperkuat aktivitas enzim StAR,  $3\beta$  *hidroxy steroid dehydrogenase* ( $3\beta$ HSD) dan P450c17 untuk segera meningkatkan sekresi androgen dalam bentuk androstenedion dan testosteron. Selanjutnya androgen berdifusi melewati lamina basalis folikel menuju sel granulosa. Di bawah pengaruh FSH, androgen terutama androstenedion mengalami proses aromatisasi dengan bantuan enzim P450 aromatase menjadi estrogen. Estrogen yang dihasilkan bekerja pada folikel untuk meningkatkan jumlah reseptor FSH di sel granulosa sehingga sel tersebut mengalami proliferasi. Hal ini penting dalam seleksi folikel dominan.<sup>(21)</sup>

#### 4. Folikel Antral

Fase pertumbuhan antrum (*antral phase*) ditandai oleh pertumbuhan cepat dari folikel dan bersifat sangat tergantung pada gonadotropin. Di bawah pengaruh FSH sel teka interna terus berdiferensiasi dan mensekresi androstenedion lebih banyak sehingga estrogen yang dihasilkan juga bertambah banyak. Meningkatnya estrogen menyebabkan aktivitas FSH dalam folikel diperkuat, memberi umpan balik negatif ke hipofisis untuk menghambat sekresi FSH serta memfasilitasi pengaruh FSH dalam membentuk reseptor LH di sel granulosa. Puncak FSH, merangsang munculnya reseptor LH yang adekuat di sel-sel granulosa untuk terjadinya luteinisasi.<sup>(21)</sup>



Gambar 2.3 Folikel Antral<sup>(21)</sup>

Folikel antral adalah folikel kecil-kecil berukuran 2-8 mm yang dapat dilihat di ovarium dengan menggunakan USG transvaginal. Folikel antral disebut juga *resting follicle*. Folikel ini terlihat pada awal siklus haid dan jumlahnya dapat memperkirakan jumlah folikel primordial di dalam ovarium. Jumlah folikel antral kedua ovarium < 5 folikel menunjukkan kelompok respon buruk dalam program superovulasi, kelompok 5-10 folikel termasuk respon kurang, kelompok 11-30 folikel termasuk respon baik, dan di atas 30 folikel disebut respon berlebihan.

Jumlah folikel antral mempunyai nilai prediksi terbaik untuk menilai respon ovarium. Pembatalan siklus lebih sering pada wanita dengan jumlah folikel antral < 6 folikel. Jumlah folikel antral yang terlihat pada pemeriksaan dengan menggunakan USG transvaginal berhubungan dengan jumlah folikel primordial. Jumlah folikel antral dihitung hari ke 3-7 setelah menstruasi. Wanita yang mempunyai jumlah folikel antral < 5 folikel yang berdiameter < 10 mm sebelum stimulasi ovarium dimulai mempunyai prognostik keberhasilan yang rendah.

#### 5. Graafian Follicle (*Folikel de Graaf*)

Fase ini merupakan proses penentuan atau seleksi satu folikel dominan yang akan berovulasi. Turunnya kadar FSH menyebabkan folikel antral yang lebih kecil mengalami atresia, sedangkan folikel dominan terus tumbuh dengan mengakumulasi jumlah sel-sel granulosa dan reseptor FSH yang lebih banyak. Tingginya kadar estrogen dalam folikel memberi umpan balik positif ke hipofise untuk menghasilkan lonjakan LH. Lonjakan LH tersebut menyebabkan disekresinya progesteron di sel-sel granulosa. FSH, LH, dan progesteron menstimulasi enzim-enzim proteolitik yang mendegradasi kolagen di dinding folikel sehingga mudah ruptur. Disekresinya prostaglandin menyebabkan otot-otot polos ovarium berkontraksi sehingga membantu pelepasan ovum.<sup>(21)</sup>

Setelah ovulasi, sel-sel stratum granulosa, jaringan ikat, dan pembuluh darah kecil di ovarium mulai berpoliferasi. Selanjutnya sel-sel granulosamembesar dan mengandung lutein dengan banyak kapiler dan

jaringan ikat diantaranya serta berwarna kekuningan yang disebut korpus luteum. Korpus luteum mensekresi hormon progesteron. Bila terjadi fertilisasi, korpus luteum tersebut dipertahankan sampai plasenta terbentuk sempurna. Bila tidak terjadi fertilisasi, sel-selnya mengalami atrofi dan terbentuklah korpus albicans.<sup>(21)</sup>

Dalam folikel *de Graaf*, ovum terbungkus oleh masa sel yang disebut dengan cumulus ooporus. Telur bersama dengan massa sel yang membungkusnya menonjol ke dalam ruang antrum yang penuh dengan cairan folikel. Pada umumnya telur ini terletak dibagian yang berhadapan dengan bagian folikel yang nantinya akan pecah pada waktu ovulasi. Hanya kadang-kadang saja telur terletak tepat pada bagian yang akan pecah pada waktu ovulasi. Komponen lain dari folikel *de graaf* adalah sel-sel granulosa. Sel-sel ini melapisi dinding antrum, juga menjadi cumulus oophorus; massa sel granulosa yang membungkus sel telur dan terletak paling dekat dengan telur disebut corona radiata.<sup>(21)</sup>

Pecahnya folikel *de graaf* dan keluarnya ovum dari dalam folikel disebut peristiwa ovulasi. Dinding folikel mula-mula retak dibagian stigma, yaitu suatu tempat di bagian permukaan folikel yang menonjol keluar dari bagian badan ovarium; lalu cairan folikel meleleh keluar. Bersama keluarnya cairan folikel inilah ovum keluar. Jaringan folikel yang masih tetap ada di ovarium setelah ovulasi berkembang menjadi korpus luteum, yaitu jaringan endokrin yang mensekresikan hormon betina selama fase luteal (*luteal phase*) siklus ovarium. Pada ovarium ditemukan *dua corpus*, yaitu *corpus luteum* dan

*corpus albicans*. *Corpus luteum* atau disebut *yellow body* berasal dari folikel *de graaf* yang telah berovulasi. Disebut badan kuning karena sel-sel granulosanya yang mengandung pigmen lipokrom yang berwarna kuning. *Corpus luteum* selain mengandung selgranulosa, juga jaringan ikat yang berasal dari teka interna. Antrum dimasuki darah serta jaringan ikat.<sup>(21)</sup>

Ovulasi folikel yang tinggal bersama teka interna menjadi suatu badan. Badan ini tampak kekuningan sehingga disebut badan kuning atau *corpus luteum*. Sel folikelnya yang biasa pula disebut sel granulosa karena banyak mengandung granula, mensekresi progesterone dan estrogen. Progesteron mengontrol implantasi embrio dalam uterus dan mencegah terjadinya pertumbuhan folikel baru serta ovulasi *Liquor folliculi*-nya sudah terperas keluar ketika proses ovulasi dan bekas antrum diisi dengan jaringan ikat. Sel granulosa kini disebut sel lutein granulosa. Sitoplasma berisi lipokrom, pigmen kuning. Itulah yang menyebabkan badan itu berwarna kuning. Lapisan luar badan ini terdiri dari sel lutein theca, yang asalnya adalah dari theca interna folikel. Jika tidak terjadi kehamilan atau implantasi, umur *corpus luteum* hanya dua minggu. Kemudian berdegenerasi dan hilang. Setelah itu terjadi haid. Jika terjadi kehamilan, plasenta menghasilkan *hormone gonadotropin*. Hormon ini merangsang *corpus luteum* untuk lebih aktif menghasilkan progesteron dan estrogen.<sup>(21)</sup>

## 2.3. Daun Gandarusa

### 2.3.1. Tanaman Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. F.)

Tanaman Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. F.) berupa semak, pada umumnya di tanam sebagai pagar hidup atau tumbuhan liar di hutan, tanggul sungai atau di pelihara sebagai tanaman obat. Tumbuh pada ketinggian 1-500 m di atas permukaan laut, tumbuh tegak, tinggi dapat mencapai 2 m, percabangan banyak, dimulai dari dekat pangkal batang. Cabang-cabang yang masih muda berwarna ungu gelap, dan bila sudah tua warnanya menjadi coklat mengkilat. Daun letak berhadapan, berupa daun tunggal, yang bentuknya lanset dengan panjang 5-20 cm., lebar 1-3,5 cm, tepi rata, ujung daun meruncing, pangkal berbentuk biji bertangkai pendek antara 5 – 7,5 mm, warna daun hijau gelap.

Bunga kecil berwarna putih atau dadu yang tersusun dalam rangkaian berupamalai bulir yang menguncup, berambut menyebar dan keluar dari ketiak daun atau ujung tangkai. Buah berbentuk bulat panjang. Selain yang berbatang hitam lebih populer ada juga yang berbatang hijau. Di India dan Asia Tenggara dipakai sebagai penurun panas, merangsang muntah, anti reumatik, pengobatan sakit kepala, kelumpuhan otot wajah, eczema, sakit mata dan telinga.<sup>(22)</sup>

Nama lokal Handarusa (Sunda), Gandarusa, Tetean, Trus (Jawa), Puli (Ternate), Besi-besi (Aceh), Gandarusa (Melayu), Bo gu dan (China), Gandarisa (Bima). Daun gandarusa mengandung justicin, alkaloida, saponin, flavonoida, minyak atsiri, dan tanin. Berkhasiat sebagai obat pegal linu, obat pening dan obat untuk haid yang tidak teratur. Kegunaan yang lain untuk obat luka terpukul (memar), patah tulang (*Fraktur*), reumatik pada persendian, bisul, borok

dankorengan. Daun tanaman gandarusa mempunyai banyak kegunaan dalam pengobatan tradisional. Di antaranya, akar dan daun direbus, kemudian diminum dua kali dalam sebulan bisa sebagai obat KB bagi laki-laki.<sup>(23)</sup>



Gambar 2.4 Tanaman Gandarusa<sup>(23)</sup>

### 2.3.2. Klasifikasi

Divisi = Spermatophyta

Sub Divisi = Angiospermae

Kelas = Dicotyledonae

Ordo = Euphorbiales

Familia = Euphorbiaceae

Genus = Justicia

Spesies = *Justicia gendarussa* Burm. f.

### 2.3.3. Kandungan yang terdapat dalam Daun Gandarusa

#### 2.3.3.1. Alkaloid

Alkaloid adalah sebuah golongan senyawa basa bernitrogen yang kebanyakan heterosiklik dan terdapat di tumbuhan (tetapi ini tidak mengecualikan

senyawa yang berasal dari hewan). Semua alkaloid mengandung setidaknya 1 buah atom nitrogen. Sebagian besar alkaloid dibentuk dari asam-asam amino seperti lisin, ornitin, fenilalanin, tirosin, dan tryptofan.<sup>(39)</sup> Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan tingkat tinggi. Sebagian besar alkaloid terdapat pada tumbuhan dikotil sedangkan untuk tumbuhan monokotil dan pteridofita mengandung alkaloid dengan kadar yang sedikit. Alkaloid mempunyai rumus kimia  $C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot 3H_2O$ .<sup>(32)</sup>

Ada beberapa kemungkinan titik tangkap molekuler senyawa alam yang terkandung dalam masing-masing ekstrak sehingga sulit untuk ditembus oleh sperma. Kemungkinan pertama, senyawa alam tersebut mampu menghambat signal transduksi. Signal transduksi dimulai dengan adanya rangsangan dari luar yang berupa faktor pertumbuhan yang ditangkap oleh reseptor. Reseptor akan menyampaikan signal proliferasi ke protein di sitoplasma. Aktivasi signal transduksi ini melalui proses fosforilasi dengan melibatkan ATP dan protein yang terlibat umumnya adalah jenis protein kinase. Proses signal transduction cascades ini dapat dihambat oleh beberapa senyawa alam yang termasuk inhibitor fosfatase dan inhibitor kinase. Ekstrak uji mungkin mengandung suatu zat inhibitor kinase sehingga dapat menghambat signal transduction cascades. Misalnya karena adanya flavonoid yang dapat berkompetisi dengan ATP dalam proses fosforilasi sehingga fosforilasi terhambat. Kemungkinan kedua, mempengaruhi program *cell cycle* yaitu dengan menghambat *cell cycle progression* dan menginduksi *cell cycle arrest*. Rangkaian signal transduksi berakhir di nukleus dan sel dari G0 masuk ke

G1 phase. Signal transduksi menginisiasi faktor transkripsi yang akan mentranskripsi gen-gen yang dibutuhkan untuk jalannya *cell cycle*.<sup>(36)</sup>

Alkaloid merupakan golongan steroid, adalah hormon seks yang berfungsi mengatur fungsi-fungsi organ reproduksi, baik pada perempuan maupun padalaki-laki. Hormon steroid seks yang terpenting adalah Estrogen, Gestagen (progesteron) dan Androgen. Estrogen adalah hormon stereroid dengan 18 atom Cyang dibentuk dari 17 ketosteroid androstenedion, dan dibagi menjadi dua jenis, yaitu estrogen alamiah dan sintetik. Jenis estrogen alamiah yang terpenting adalah estradiol (E2), estriol (E3), dan estron (E4). Estrogen baru dapat bekerja secara aktif setelah diubah terlebih dahulu menjadi estradiol.

Estrogen dibentuk tidak hanya pada fase folikuler, melainkan pada fase luteal oleh sel-sel yang terdapat pada dinding folikel. Pada endometrium estrogen menyebabkan perubahan proliferaatif, sedangkan pada vagina, tuba dan uterus, estrogen akan meningkatkan kemampuan kerja organ-organ tersebut. Gestagen (progesterone) termasuk steroid atom C, baru bisa bekerja pada organ sasaran setelah terbentuk reseptornya terlebih dahulu oleh estrogen. Progesteron menyebabkan perubahan sekretorik pada endometrium dan mengurangi kontraksi miometrium. Pada serviks, progesteron menyebabkan perubahan konsistensi lendir serviks, sehingga sulit untuk ditembus oleh sperma dan pada akhirnya tidak terjadi *fertilisasi*.<sup>(24)</sup>

#### 2.3.3.2. Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Saponin mempunyai kandungan glikosida triterpenoid

dan sterol. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa dan menghemolisis darah.<sup>(41)</sup> Mula-mula disebut saponin karena sifatnya yang khas menyerupai sabun. Saponin adalah suatu glikosida yang mungkin ada pada banyak macam tanaman. Saponin memiliki kegunaan dalam pengobatan, terutama karena sifatnya yang mempengaruhi absorpsi zat aktif secara farmakologi. Beberapa jenis saponin bekerja sebagai antimikroba. Saponin mempunyai rumus kimia  $C_{56}H_{92}O_{29}$ .<sup>(33)</sup>

Senyawa saponin dapat bekerja sebagai antimikroba dan digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid yang digunakan dalam bidang kesehatan. Inti steroid spiroketal pada saponin mempunyai kerangka karbon dasar yang sama dengan kerangka steroid. Saponin dimanfaatkan sebagai sumber sapogenin dan dapat diubah menjadi sterol yang berkhasiat penting, misalnya kortison, estrogen kontraseptif dan lain-lain.<sup>(37)</sup>

Saponin merupakan senyawa glikosida triterpen dan sterol. Ikatan sterol dalam senyawa saponin merupakan ikatan steroid yang terdapat dalam hormon steroid, termasuk dalam kelompok steroid yang mempunyai sifat penghambat spermatogenesis.<sup>(24)</sup> Golongan steroid merupakan prekursor hormon estrogen yang salah satu kerjanya pada otot polos uterus, yaitu merangsang kontraksi uterus. Estrogen dapat menurunkan sekresi FSH pada keadaan tertentu akan menghambat LH (reaksi umpan balik) sehingga dapat mempengaruhi ovulasi.<sup>(24)</sup>

#### 2.3.3.3. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 atom karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga dapat ditemukan pada setiap ekstrak tumbuhan. Flavonoid mempunyai rumus kimia  $C_{15}H_{10}O_2$ .<sup>(34)</sup> Flavonoid mempunyai beberapa kandungan antara lain isoflavon, flavon, flavonol, flavanon, dihidroksi flavonol, khalkon, dan antosianidin.<sup>(40)</sup>

Mekanisme kerja flavonoid adalah dengan menginaktivasi karsinogen, penghambatan siklus sel, dan induksi apoptosis. Kinerja flavonoid dalam tubuh juga mampu berikatan dengan reseptor estrogen alfa (*RE $\alpha$* ) pada testis dan epididimis yang dapat menggantikan fungsi estrogenik dan bekerja sama dengan testosteron untuk pematangan spermatozoa.<sup>(38)</sup>

Flavonoid merupakan substansi poliphenolic yang terdapat dalam sebagian besar tanaman. Kombinasi multipel grup hidroksil, gula, oksigen, dan grup metal membentuk beberapa kelas dari flavonoid yaitu flavonols, flavones, flavanols (*catechins*) antochyains dan isoflavons.<sup>(25)</sup>

Isoflavon merupakan flavonoid yang bertindak sebagai fitoestrogen yang banyak berguna bagi kesehatan. Flavonoida dan isoflavonoida adalah salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tumbuh-tumbuhan, khususnya dari golongan Leguminoceae (tanaman berbunga kupukupu).<sup>(25)</sup> Isoflavon mempunyai rumus kimia  $C_{15}H_{10}O_2$ .

Senyawa isoflavon terdistribusi secara luas pada bagian-bagian tanaman, baik pada akar, batang, daun, maupun buah, sehingga senyawa ini secara tidak

disadari juga terdapat dalam menu makanan sehari-hari. Bahkan, karena sedemikian luas distribusinya dalam tanaman maka dikatakan bahwa hampir tidak normal apabila suatu menu makanan tanpa mengandung senyawa flavonoid. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa flavon tidak membahayakan bagi tubuh dan bahkan sebaliknya dapat memberikan manfaat pada kesehatan.<sup>(25)</sup>

Senyawa isoflavon merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak disintesis oleh tanaman. Oleh karena itu, tanaman merupakan sumber utama senyawa isoflavon di alam.<sup>(25)</sup> Berdasarkan biosintesisnya flavon/isoflavon digolongkan sebagai senyawa metabolit sekunder. Isoflavon termasuk dalam golongan flavonoid (1,2-diarilpropan) dan merupakan bagian kelompok yang terbesar dalam golongan tersebut.

Aktivitas fisiologis senyawa isoflavon telah banyak diteliti dan ternyata menunjukkan bahwa berbagai aktivitas berkaitan dengan struktur senyawanya. Aktivitas suatu senyawa ditentukan pula oleh gugus-gugus yang terdapat dalam struktur tersebut. Dengan demikian, dengan cara derivatisasi secara kimia dan secara biologis, dapat dibentuk senyawa-senyawa aktif yang diinginkan. Dalam hal struktur, aktivitas antioksidan ditentukan oleh bentuk struktur bebas (aglikon) dari senyawa. Aktivitas tersebut ditentukan oleh gugus -OH ganda, terutama dengan gugus C=O pada posisi C-3 dengan gugus -OH pada posisi C-2 atau pada posisi C-5.

Hasil transformasi isoflavon selama fermentasi tempe daidzein, genistein, glisitein, dan Faktor-II, ternyata memenuhi kriteria tersebut. Sistem gugus fungsi demikian memungkinkan terbentuknya kompleks dengan logam.<sup>(25)</sup> Aktivitas estrogenik isoflavon ternyata terkait dengan struktur kimianya yang mirip dengan

stilbestrol, yang biasa digunakan sebagai obat estrogenik. Bahkan, senyawa isoflavon mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dari stilbestrol. Daidzein merupakan senyawa isoflavon yang aktivitas estrogenik-nya lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa isoflavon lainnya. Aktivitas anti inflamasi ditunjukkan oleh gugus C=O pada posisi C-3 dan gugus -OH pada posisi C-5 yang dapat membentuk kompleks dengan logam besi, seperti quersetin. Sedangkan aktivitas anti-ulser ditunjukkan oleh struktur gugus -OH yang bersebelahan, seperti pada mirisetin. Sebagaimana diperlihatkan oleh Graham bahwa senyawa formononitin dan gliseolin berpotensi untuk membunuh kapang patogen sehingga berpotensi sebagai senyawa pestisida (biopestisida).<sup>(26)</sup>

Di atas disebutkan bahwa senyawa isoflavonoida banyak mempunyai aktivitas biologis. Mekanisme aktivitas senyawa ini dapat dipandang sebagai fungsi "alat komunikasi" (*molecular messenger*) dalam proses interaksi antar sel yang selanjutnya mempengaruhi proses metabolisme sel atau makhluk hidup yang bersangkutan. Dalam hal ini, dapat secara negatif (menghambat) maupun secara positif (menstimulasi).

Jenis senyawa isoflavon di alam sangat bervariasi. Di antaranya telah berhasil diidentifikasi struktur kimianya dan bahkan telah diketahui fungsi fisiologisnya dan telah dapat dimanfaatkan untuk obat-obatan.<sup>(25)</sup> Senyawa isoflavon terbukti juga mempunyai efek hormonal, khususnya efek estrogenik. Efek estrogenik ini terkait dengan struktur isoflavon yang dapat ditransformasikan menjadi equol, dimana equol ini mempunyai struktur fenolik yang mirip dengan hormon estrogen.<sup>(26)</sup>

## **2.4. Hubungan antara Daun Gandarusa dengan Meningkatnya Hormon Estradiol Endogen dan Perubahan Gambaran Histologi Folikel Antral Ovarium**

Tanaman Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. F.) merupakan tanaman pagar hidup, dipelihara sebagai tanaman obat. Hasil penelitian Rusmiatik menunjukkan bahwa ekstrak daun gandarusa meningkatkan jumlah folikel sekunder, dan mengurangi terbentuknya jumlah kista fungsional. Prajogo dalam penelitian menunjukkan bahwa daun gandarusa mengandung 12 komponen flavonoid, dengan komponen mayor 6,8-di- $\alpha$ -L-arabinopiranosil-4,5,7-trihidroksi flavon atau 6,8-diarabinosilapigenin atau Gendarusin A dengan aktivitas mencegah penetrasi spermatozoa ke ovum.<sup>(6)</sup> Kandungan Isoflavon di dalam flavonoid merupakan bahan aktif yang berpengaruh pada hormon estrogen dan testosteron.<sup>(7)</sup> Flavanoid mengacu pada fitoestrogen karena ditemukan dari tumbuhan (fito) dan kemampuannya untuk bereaksi seperti hormon estrogen pada tubuh manusia.<sup>(8)</sup> Mekanisme kerja fitoestrogen dalam jaringan adalah dengan berikatan pada reseptor estrogen dan mencegah pengikatan estrogen alami, hal ini menyebabkan isoflavon dapat berikatan dengan *Receptor Estrogen* (RE), di hipofise anterior mensintesis GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) untuk menstimulus sekresi FSH (*Folicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*). Hipotalamus dan hipofise mempunyai reseptor androgen dan estrogen. Namun afinitas RE ligan tersebut lebih rendah dibanding estrogen endogen sel epitel dari jaringan reproduksi seperti ovarium. Pada saat menopause jumlah folikel yang mengalami atresia terus meningkat. Pada saat menopause jumlah folikel

yang mengalami atresia terus meningkat, sampai suatu ketika tidak tersedia lagi folikel yang cukup. Produksi estrogen pun berkurang dan tidak terjadi haid lagi yang berakhir dengan terjadinya menopause. Oleh karena itu, menopause diartikan sebagai haid alami terakhir. Bila pada usia perimenopause ditemukan kadar FSH dan estradiol yang bervariasi, maka setelah memasuki usia menopause akan ditemukan kadar FSH tinggi (>40 mIU/ml). Kadar estradiol pada awal menopause dapat rendah bagi sebagian wanita, sedangkan pada sebagian wanita lain akan tinggi apalagi pada wanita gemuk akibat aromatisasi androgen menjadi estrogen dalam jaringan lemak. Diagnosis menopause merupakan diagnosis retrospektif, bila seorang wanita tidak haid selama 12 bulan dan dijumpai kadar FSH darah >40 mIU/ml dan kadar estradiol <30 pg/ml maka dapat dikatakan wanita tersebut telah mengalami menopause<sup>46)</sup>

Selama menopause, penurunan fungsi estrogen dan inhibin ovarium mengakibatkan berkurangnya sinyal umpan balik negatif terhadap hipofisis. Inhibin berfungsi untuk meregulasi FSH, sehingga kadar FSH lebih banyak daripada kadar LH.<sup>(49)</sup> Ovarium pascamenopause berukuran kecil dan tidak berisi folikel.<sup>(49)</sup>

Mekanisme aksi biologis estrogen adalah kemampuannya untuk bertindak sebagai estrogen agonis (menyerupai estrogen) yang dapat berikatan dengan RE dan menstimulasi respon estrogen, atau bertindak sebagai estrogen antagonis (inhibitor aktivitas estrogen) yang dapat berikatan dengan RE namun menghambat respon estrogen. Isoflavon bersifat antagonis (inhibitor aktivitas estrogen) ketika

kadar estrogen tinggi, sebaliknya isoflavon bersifat agonis ketika kadar estrogen rendah. Isoflavon menunjukkan aktivitas biologi yang penting diantaranya meningkatkan kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi ovarium. Hormon estrogen yang dihasilkan juga meningkat karena bertambahnya jumlah sel folikel penghasil estrogen.<sup>(9)</sup> Efek peningkatan hormon estrogen terhadap uterus menyebabkan proliferasi endometrium dan perkembangan kelenjar endometrium yang digunakan sebagai nutrisi bagi ovum yang berimplantasi, sehingga dapat menurunkan keluhan fisik seperti keluarnya keringat, suhu tubuh meningkat, dan osteoporosis, serta keluhan psikis seperti gugup, insomnia, sakit kepala dan depresi serta *cancer mammae*.<sup>(10)</sup>

## BAB III

### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

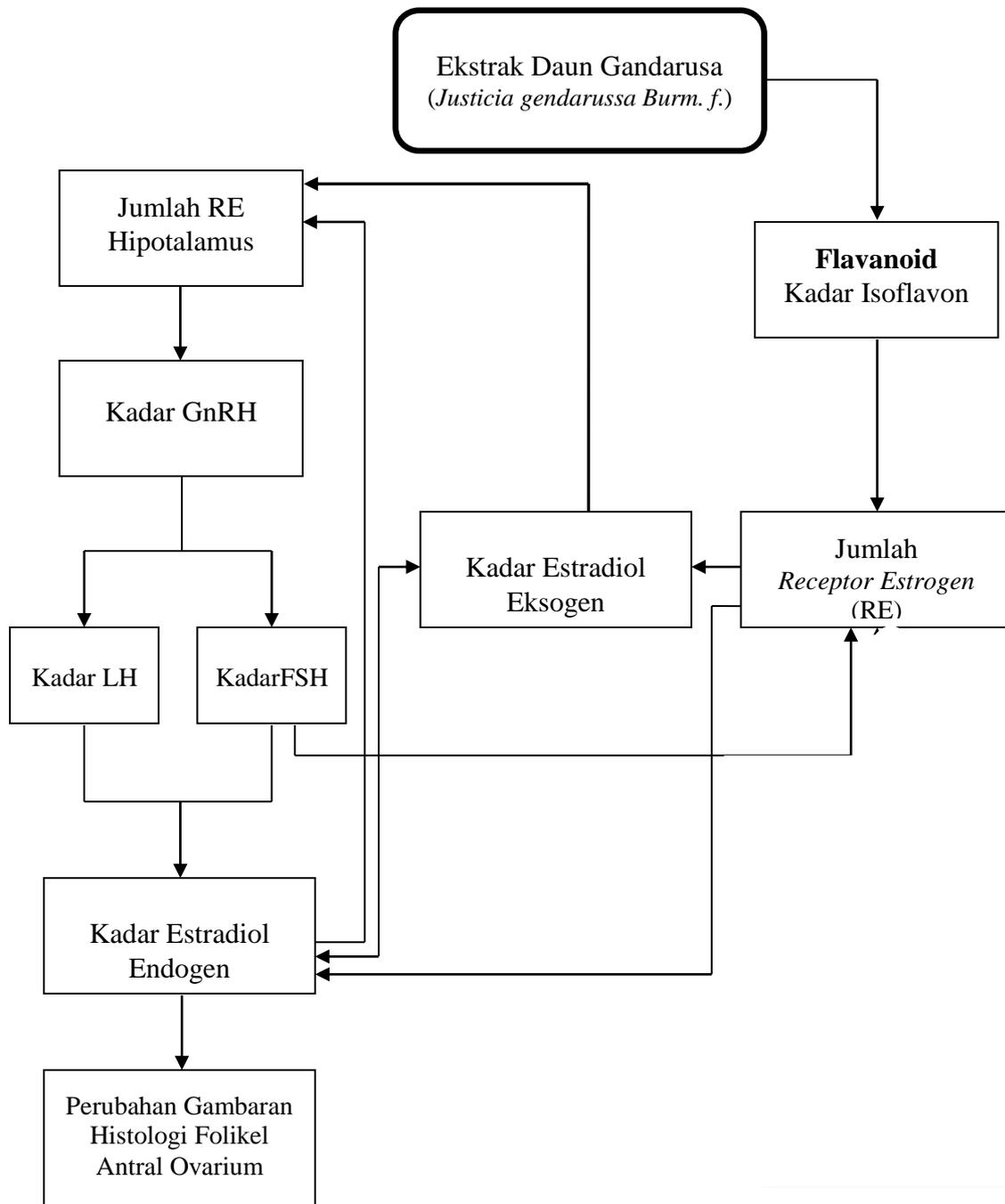
#### 3.1. Kerangka Teori

Tanaman Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. f.) merupakan tanaman semak dan pada umumnya di tanam sebagai pagar hidup atau tumbuhan liar di hutan, tanggul sungai atau di pelihara sebagai tanaman obat. Etnawati dalam penelitian menunjukkan bahwa daun gandarusa mengandung justicin, alkaloida, saponin, flavonoida, minyak atsiri, dan tannin. Golongan flavonoid yang dihasilkan dari daun gandarusa antara lain dari turunan flavanon, calkon, flavon, pterokarpan, isoflavanon, isoflavon, dan isoflavan.<sup>(6)</sup> Kandungan Isoflavon di dalam flavonoid merupakan bahan aktif yang berpengaruh pada hormon estrogen dan testosteron.<sup>(7)</sup> Flavonoid mengacu pada fitoestrogen karena ditemukan dari tumbuhan (*fito*) dan kemampuannya untuk bereaksi seperti hormon estrogen pada tubuh manusia.<sup>(8)</sup> Mekanisme kerja fitoestrogen dalam jaringan adalah dengan berikatan pada reseptor estrogen. Hal ini menyebabkan isoflavon dapat berikatan dengan *Receptor Estrogen* (RE), di hipofise anterior mensintesis GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) untuk menstimulus sekresi FSH (*Folicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*). Hipotalamus dan hipofise mempunyai reseptor androgen dan estrogen. Namun afinitas RE ligan tersebut lebih rendah dibanding estrogen endogen sel epitel dari jaringan reproduksi seperti ovarium.

Mekanisme aksi biologis estrogen adalah kemampuannya untuk bertindak sebagai estrogen agonis yang dapat berikatan dengan RE dan menstimulasi respon

estrogen, atau bertindak sebagai estrogen antagonis (inhibitor aktivitas estrogen) yang dapat berikatan dengan RE namun menghambat respon estrogen. Isoflavon bersifat antagonis (inhibitor aktivitas estrogen) ketika kadar estrogen tinggi, sebaliknya isoflavon bersifat agonis ketika kadar estrogen rendah. Isoflavon menunjukkan aktivitas biologi yang penting diantaranya meningkatkan hormon estrogen dan histologi ovarium. Hormon estrogen yang dihasilkan juga meningkat karena bertambahnya jumlah sel folikel penghasil estrogen.<sup>(9)</sup> Efek peningkatan hormon estrogen terhadap uterus menyebabkan proliferasi endometrium dan perkembangan kelenjar endometrium yang digunakan sebagai nutrisi bagi ovum yang berimplantasi, sehingga dapat menurunkan keluhan fisik seperti keluarnya keringat, suhu tubuh meningkat, pendarahan tidak teratur, dan osteoporosis, serta keluhan psikis seperti gugup, insomnia, sakit kepala dan depresi serta *cancer mammae*.<sup>(10)</sup> Berdasarkan hal itu, maka dibuat kerangka teori sebagai berikut:

### 3.1. Kerangka Teori



### 3.2. Kerangka Konsep

Konsep penelitian ini dapat dilihat dalam bentuk bagan sebagai berikut:



### 3.3. Hipotesis Penelitian

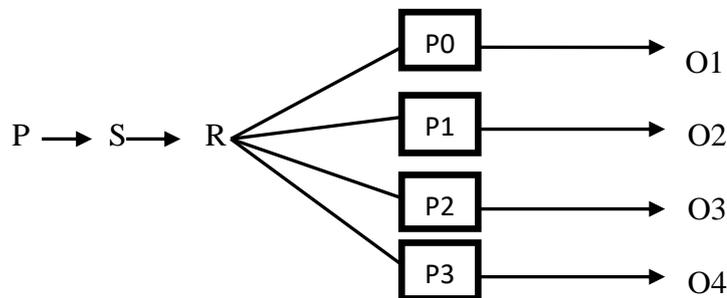
“Pemberian ekstrak daun gandarusa berpengaruh terhadap peningkatan kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada mencit betina”.

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian *true experimental* dengan menggunakan *posttest only control group design*.<sup>(28)</sup> Skema penelitian dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 4.1. Desain Penelitian

Keterangan :

- P = Populasi mencit menopause
- S = Sampel
- R = Randomisasi
- P0 = Kelompok kontrol/Placebo dengan pemberian 0,48 ml aquadest
- P1 = Kelompok perlakuan 1 dengan pemberian 0,48 ml ekstrak daun gandarusa konsentrasi 10%.
- P2 = Kelompok perlakuan 2 dengan pemberian 0,48 ml ekstrak daun gandarusa konsentrasi 20%.
- P3 = Kelompok perlakuan 3 dengan pemberian 0,48 ml ekstrak daun gandarusa konsentrasi 30%.
- O1 = Observasi kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada kelompok control post test.
- O2 = Observasi kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada kelompok perlakuan 1 dengan pemberian 0,48 ml ekstrak daun gandarusa konsentrasi 10% .<sup>(5)</sup>
- O3 = Observasi kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada kelompok perlakuan 2 dengan pemberian 0,48 ml ekstrak daun gandarusa konsentrasi 20% .
- O4 = Observasi kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada kelompok perlakuan 3 dengan pemberian 0,48 ml ekstrak daun gandarusa konsentrasi 30%

## **4.2. Populasi dan Sampel Penelitian**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina galur wistar mencit umur 16–17 bulan dengan berat badan antara 18-35 gram. Umur mencit ditentukan dari melihat tanggal kelahiran mencit dan waktu pengambilan sampel. Satu bulan mencit ekuivalen dengan 3 tahun pada manusia. Jadi mencit 16-17 bulan ekuivalen dengan manusia 48-51 tahun (masa menopause).<sup>(31)</sup> yang diperoleh dari laboratorium UGM bidang layanan pra klinik dan pengembangan hewan percobaan.

Jumlah sampel penelitian menurut WHO untuk hewan coba adalah 5 ekor. Pada penelitian ini jumlah sampel perkelompok adalah 6 ekor, sehingga total jumlah sampel yang digunakan menjadi 24 ekor. Sampel yang dipilih kemudian dibagi menjadi (empat) kelompok secara acak (random), dimana satu kelompok sebagai kelompok kontrol dan 3 (tiga) kelompok lainnya sebagai kelompok eksperimen. Penentuan umur sampel berdasarkan pertimbangan proses penuaan, berat badan. Adapun kriteria sampel penelitian adalah sebagai berikut:

### **4.2.1. Kriteria Inklusi**

1. Mencit betina yang berumur antara 16-17 bulan, BB 18-35 gram.
2. Mencit betina yang sehat dan tidak bunting

### **4.2.2. Kriteria Eksklusi**

1. Mencit tidak sehat (gerakan tidak sehat).
2. Mencit mati saat penelitian.

## **4.3. Variabel Penelitian**

### **4.3.1. Variabel**

#### 4.3.1.1 Variabel bebas

Ekstrak daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm. F).

#### 4.3.1.2 Variabel tergantung

- a. Kadar hormon estradiol endogen
- b. Perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium

### **4.4. Definisi Operasional**

#### 4.4.1 Variabel Bebas

Ekstrak daun gandarusa adalah ekstrak hasil ekstraksi etanol 70% dengan metode maserasi yang diberikan peroral kepada mencit betina melalui sonde sebanyak 0,48 ml untuk kelompok kontrol dan masing-masing kelompok perlakuan diberikan konsentrasi 10% (0,48 ml), 20% (0,48 ml), 30% (0,48 ml) diberikan 2 kali sehari. Skala data nominal.

#### 4.4.2 Variabel Tergantung

##### 4.4.2.1. Hormon estradiol endogen

Hormon estradiol endogen adalah kadar hormon estradiol endogen yang diperoleh dari sampel darah. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke 28 setelah perlakuan pada bagian medial kantung sinus orbitalis mata kanan sebanyak 0,5 ml untuk pemeriksaan kadar estradiol endogen menggunakan metode ELISA. Skala data rasio.

##### 4.4.2.2 . Gambaran histologi folikel antral ovarium

Gambaran histologi folikel antral ovarium adalah jumlah folikel antral preparat histologis pada setiap ovarium kiri dan

kanan, dibuat blok dengan metode paraffin dengan pengecatan HE yang diamati dalam lima lapang pandang menggunakan mikroskop *Olympus* tipe BX51 dengan pembesaran  $40 \times 10$  (400 kali), pengamatan dimulai dari kiri lalu digeser kekanan, kemudian kebawah sesuai arah jarum jam. Hasil pengamatan banyaknya folikel antral ovarium kiri dan kanan kemudian dijumlahkan folikelnya. Skala data rasio.

#### **4.5. Bahan/Materi penelitian**

1. Daun tanaman gandarusa yang diekstrak dengan etanol 70% dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30%.

2. Hewan coba

Dalam penelitian ini digunakan mencit betina yang berumur kurang lebih 16-17 bulan, diperkirakan sedang mengalami proses penuaan, berat badan 18-35 gram. Diberi makan dan minum *ad libitum* dengan ransum yang berbentuk pellet, dengan volume dan komposisi yang sama.

3. Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan untuk pewarnaan preparat histologi ovarium terdiri dari: Larutan formalin 10%, yang digunakan untuk menyimpan organ fiksasi; etanol 70%, estradiol, paraffin cair histosac, hematoxylin eosin (HE), xylol, balsam.

4. Alat penelitian

Meliputi timbangan gram, kaca benda dan kaca penutup, mikroskop *Olympus* tipe BX 51, seperangkat alat bedah, dan *Microm* tipe HM 351.

#### 4.6. Cara Penelitian dan Alur Kerja Penelitian

##### 1. Pembuatan ekstrak daun gandarusa

Pembuatan ekstrak daun gandarusa dilakukan di laboratorium PAU UGM Yogyakarta. Daun gandarusa dikeringkan dalam oven dengan suhu 40<sup>0</sup>C selama 7 jam sebanyak 1500 gram serbuk (yang telah diayak menggunakan ayakan) daun gandarusa diekstraksi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 7,5 liter (1:5) menggunakan metode maserasi dengan pengadukan menggunakan stirrer selama kurang lebih 1 jam, kemudian didiamkan sampai 24 jam. Maserat dipisahkan dan disaring menggunakan kain flannel. Maserat di uapkan dengan *vacuum ratory evaporator* dengan suhu 60<sup>0</sup>C dan kecepatan rpm yaitu 100 rpm. Ekstrak kental ditimbang dan dihitung rendemennya.

##### 2. Prosedur pemberian Pakan

Hewan coba yaitu mencit betina disiapkan 24 ekor yang dipilih secara *random*. Adaptasi mencit selama 7 hari. Selama proses adaptasi mencit tetap diberi makan berupa ransum ayam berbentuk pellet dan minum sesuai kebutuhan. Selesai proses adaptasi, berat badan mencit ditimbang dengan timbangan *Camry* tipe s/m spica 2011.

##### 3. Perlakuan pemberian ekstrak daun gandarusa

Selanjutnya mencit dipisahkan menjadi empat kelompok, yaitu kelompok *placebo*, kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2, dan kelompok perlakuan 3. Setiap kelompok ditempatkan pada satu kandang. Setiap mencit pada kelompok placebo diberikan aquadest sebanyak 0,48 ml selama 28 hari, sedangkan mencit pada kelompok perlakuan 1 (P1) diberikan ekstrak daun gandarusa dengan konsentrasi 10% sebanyak 0,48 ml, mencit pada kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan 0,48 ml ekstrak daun gandarusa dengan konsentrasi 20% dan kelompok

perlakuan 3 (P3) diberikan 0,48 ml ekstrak daun gandarusa dengan konsentrasi 30%, per *oral* dua kali sehari jam 8 pagi dan jam 5 sore selama 28 hari.

Penetapan dosis dan lama perlakuan berdasarkan pada penelitian Rusmiatik tentang pemberian ekstrak daun gandarusa menghambat proses penuaan ovarium pada mencit.. Penelitian tersebut bertujuan untuk melihat pengaruh ekstrak tanaman gandarusa terhadap peningkatan jumlah folikel sekunder, mengurangi terbentuknya jumlah kista fungsional. Marmut yang menjadi hewan coba diberikan dosis 6 ml ekstrak daun gandarusa dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30% <sup>(29)</sup> dan pemberian estrogen menghambat proses penuaan ovarium mencit betina selama 28 hari.<sup>(30)</sup>

#### 4. Perlakuan Pembedahan pada Mencit

Setelah perlakuan selama 28 hari, dilakukan pembedahan. Langkah kerja pembedahan dimulai dengan memasukkan mencit kedalam tabung yang berisi chloroform 100% sampai mencit mati, kemudian dibedah untuk mengambil organ ovarium kiri dan kanan untuk pembuatan preparat histologis ovarium. Hewan coba yang telah mati dan diambil organnya ditanam didalam tanah.

#### 5. Pembuatan sediaan

Pembuatan sediaan *mikroanatomi* ovarium dilakukan dengan metode parafin dengan tahapan sebagai berikut.

##### a. Fiksasi

Ovarium difiksasi dalam larutan *bufer* formalin, dilanjutkan dengan larutan Bouin selama 3 jam.

##### b. *Washing, dehidrasi* dan *clearing*

Organ ovarium dicuci dengan alkohol 70% beberapa kali. *Dehidrasi* dilakukan dengan alkohol konsentrasi bertingkat dimulai dari alkohol 70%,

80%, 90%, 95% absolut. Untuk menjernihkan, organ ovarium, direndam dalam toluol selama semalam.

c. *Infiltrasi dan embedding*

Infiltrasi parafin ke dalam jaringan dengan cara merendam organ ovarium dalam campuran toluol dan paraffin selama 30 menit, kemudian dilanjutkan dengan paraffin murni I, II, III masing-masing selama 50 menit selanjutnya dilakukan *embedding* yaitu penanaman organ dalam paraffin padat.

d. Pengirisan dan penempelan

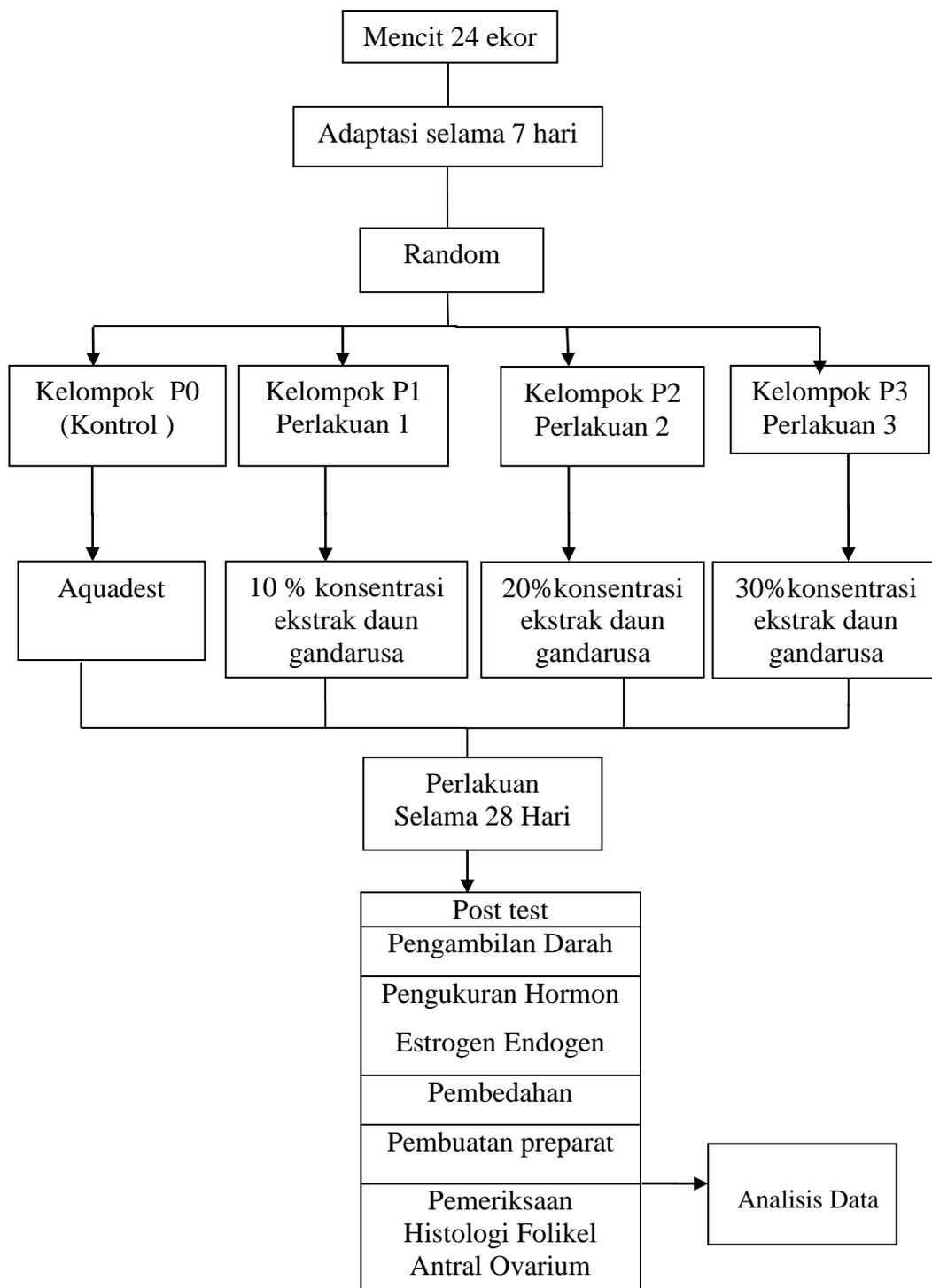
Blok parafin yang berisi organ ovarium diiris 6  $\mu$ m dibagian tengah menggunakan mikrotom *Microm* type HM 351. Kemudian ditempel pada gelas benda yang telah diolesi dengan *Mayers albumin*. Dibiarkan selama 24 jam agar penempelan irisan organ ovarium menciit menempel cukup kuat.

e. *Staining dan mounting*

Sediaan dipulas dengan *Hematoxylin Ehrlich-Eosin* dengan urutan sebagai berikut: xylol I selama 5 menit; xylol II selama 5 menit; xylol III selama 5 menit; alkohol 100% I selama 5 menit; alkohol 100% II selama 5 menit; *aquadest* (beberapa celup), *Harris-Hematoxylin* selama 15 menit; *aquadest* selama 1 menit (celup naik turun); acid alkohol 1 % sebanyak 5-7 celupan (jangan sampai pucat); *aquadest* I selama 1 menit; *aquadest* II selama 15; *eosin* selama 2 menit; alkohol 96% I selama 3 menit; alkohol 96% II selama 3 menit; alkohol 100% I selama 3 menit; alkohol 100% II selama 3 menit; *xylol* IV selama 5 menit; *xylol* V selama 5 menit. Sediaanyang telah dipulas ditutup, direkatkan menggunakan *permount*.

6. Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan untuk melihat gambaran histologi folikel antral ovarium pada setiap ovarium kiri dan kanan, dibuat blok dengan metode paraffin dengan pengecatan HE yang diamati dalam lima lapang pandang menggunakan mikroskop *Olympus* tipe BX51 dengan perbesaran 40x10 (100x), pengamatan dimulai dari kiri lalu digeser kekanan, kemudian kebawah sesuai arah jarum jam. Hasil pengamatan banyaknya folikel antral ovarium kiri dan kanan kemudian dijumlahkan folikelnya. Secara skematis, prosedur penelitian yang dilaksanakan sebagai berikut:



Gambar 4.2. Bagan Prosedur Penelitian

#### 4.7. Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah observasi. Observasi merupakan teknik yang digunakan untuk mengumpulkan informasi tentang situasi dan peristiwa selama penelitian berlangsung. Pada penelitian ini pengumpulan data diperoleh dari hasil observasi:

1. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke 28 pada bagian medial kantung sinus orbitalis mata kanan sebanyak 0,5 ml dilakukan pada pagi hari untuk pemeriksaan kadar estradiol endogen menggunakan metode ELISA.
2. Pembuatan preparat histologi ovarium untuk pengamatan perubahan folikel antral ovarium.

#### 4.8. Analisis Data

Data dikumpulkan dan disajikan dalam bentuk deskriptif kemudian dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test* dikarenakan data rasio dan jumlah sampel tiap kelompok <50. Uji normalitas pada hormon estradiol endogen dengan uji *Shapiro Wilk* diperoleh nilai  $p(<0,05)$  yang artinya data kadar hormon estradiol endogen tidak berdistribusi normal. Uji homogenitas dengan *Levene Test* diperoleh  $p(<0,05)$  yang artinya nilai hormon estradiol endogen tidak homogen. Data kadar estradiol endogen tidak normal dan tidak homogen, maka dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis* setelah itu untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara berbeda signifikan antar empat kelompok dilakukan uji post hoc LSD.

Data histologi folikel antral ovarium kiri dan kanan berdistribusi normal dan homogen, untuk membuktikan hipotesis penelitian setelah data terbukti normal

dan homogen kemudian dilakukan analisis *komparatif*, yaitu uji parametrik *One Way Anova*. Setelah itu untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara berbeda signifikan antar empat kelompok dilakukan uji post hoc LSD.

#### **4.9. Jadwal Pelaksanaannya Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan selama 28 hari di bulan Mei-Juni 2017 di Laboratorium PAU Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Untuk mengetahui kadar estradiol endogen pada mencit percobaan dilakukan pemeriksaan di Laboratorium Patologi Anatomi, Fakultas Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta dan pemeriksaan histologi ovarium di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Islam Sultan Agung Semarang pada bulan Agustus 2017 dilakukan oleh Dokter Spesialis Patologi Anatomi.

## BAB V

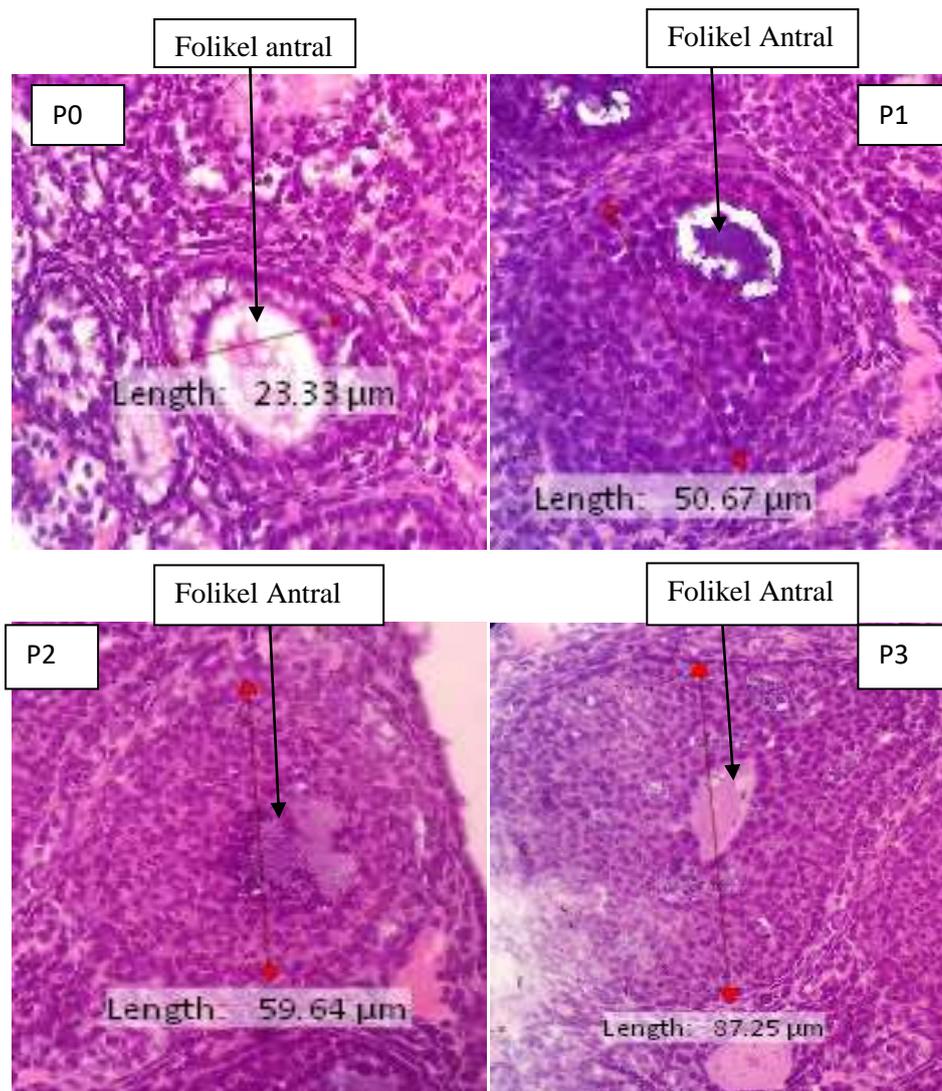
### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Hasil Penelitian

Hasil analisis statistik efek pemberian ekstrak daun gandarusa terhadap kadar estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada mencit betina dalam penelitian ini dapat dipaparkan dalam tabel 5.1 dan gambar 5.1.

Tabel 5.1 Data Hasil Perlakuan

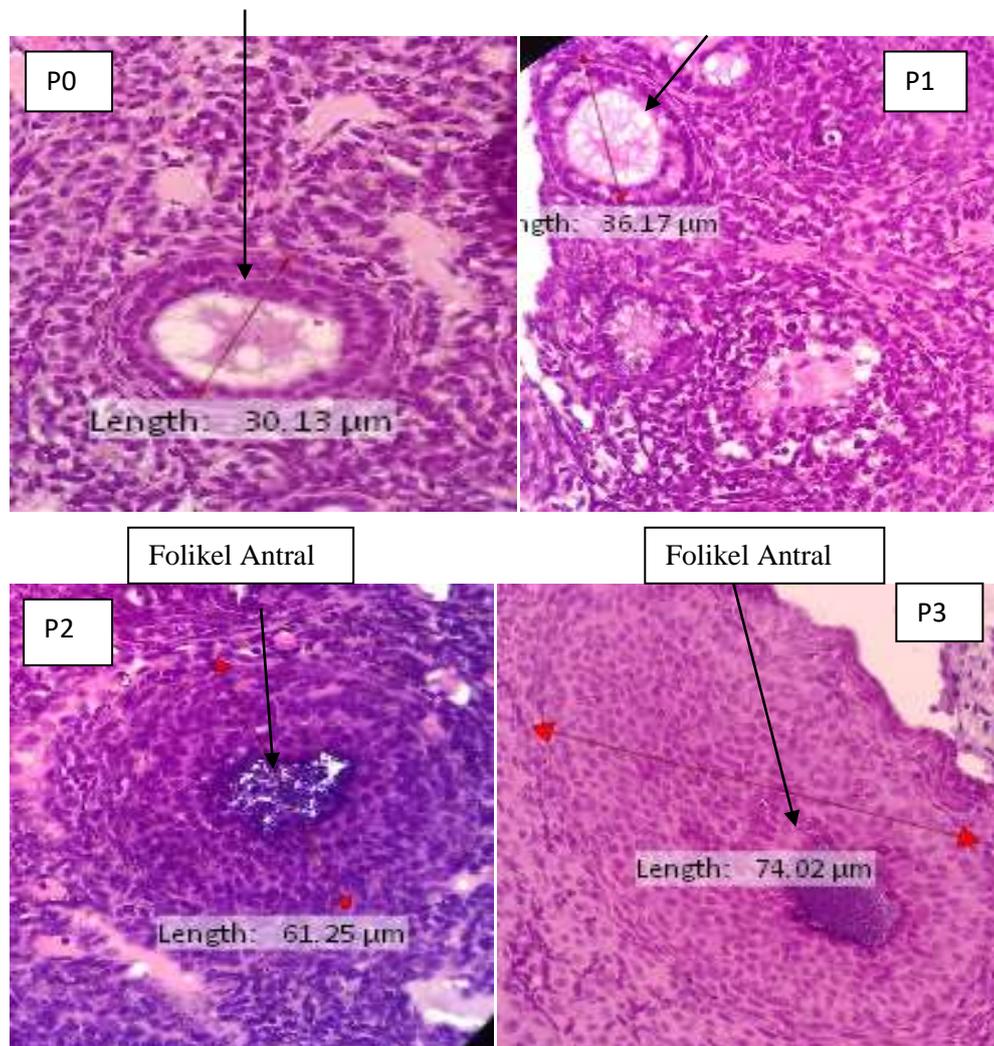
VARIABEL	KELOMPOK				p
	P0	P1(10%)	P2(20%)	P3(30%)	
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	
<b>Hormon Estradiol Endogen</b>	192.83±59.21	589.50±42.87	813.00±11.86	1288.00±10.73	
<i>Shapiro-wilk</i>					> 0,05
<i>Levene test</i>					P=0,016
<i>Kruskal-Wallis Test</i>					P=0,000
<b>Histologi Ovarium Kiri</b>	5.50±0.517	9.76±0.612	13.06±0.301	14.13±0.206	
<i>Shapiro-wilk</i>					> 0,05
<i>Levene test</i>					P=0,359
<i>One way ANOVA</i>					P=0,000
<b>Histologi Ovarium Kanan</b>	6.23±0.388	9.83±0.408	13.06±0.350	14.10±0.517	
<i>Shapiro-wilk</i>					> 0,05
<i>Levene test</i>					P=0,914
<i>One way ANOVA</i>					P=0,000



Gambar 5.1 Histologi Ovarium Kiri Mencit Pengecatan HE Perbesaran 400 x  
 P0: kelompok kontrol , P1: konsentrasi 10%, P2: konsentrasi 20%, P3: konsentrasi 30%.

Folikel Antral

Folikel Antral



Gambar 5.2 Histologi Ovarium Kanan Mencit Pengecatan HE Pembesaran 400 x P0: kelompok kontrol, P1: konsentrasi 10%, P2: konsentrasi 20% , P3: konsentrasi 30%.

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 5.1 diperoleh nilai mean hormon estradiol endogen paling tinggi adalah pada kelompok dengan pemberian ekstrak daun gandarusa pada konsentrasi 30% yaitu sebesar  $1288.00 \pm 10.73$ , diikuti dengan kelompok dengan pemberian ekstrak daun gandarusa pada konsentrasi 20% yaitu sebesar  $813.00 \pm 11.86$  dan kemudian kelompok dengan pemberian ekstrak daun gandarusa pada konsentrasi 10% yaitu sebesar  $589.50 \pm 42.87$ , adapun

nilai hormon estradiol endogen paling rendah terdapat pada kelompok kontrol yaitu  $192.83 \pm 59.21$ .

Nilai hormon estradiol endogen diuji normalitas sebaran data dengan Shapiro Wilk (n= 24 sampel) diperoleh  $p < 0,05$ , mempunyai arti sebaran data hormon estradiol endogen tidak normal. Nilai hormon estradiol endogen diuji homogenitas dengan Levene Test dengan hasil  $p = 0,016$  ( $p < 0,05$ ), mempunyai arti nilai hormon estradiol endogen tidak homogen (heterogen). Hasil pengujian menunjukkan bahwa data hormon estradiol endogen tidak normal dan tidak homogen, maka dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis*. Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa nilai  $p = 0,000$  atau nilai  $p < 0,05$ , mempunyai arti bahwa nilai hormon estradiol endogen pada empat kelompok terdapat perbedaan yang bermakna.

Nilai mean pada histologi folikel antral ovarium kiri paling tinggi adalah pada kelompok dengan pemberian ekstrak daun gandarusa pada konsentrasi 30% yaitu sebesar  $14.13 \pm 0.206$ , diikuti dengan kelompok dengan pemberian ekstrak daun gandarusa pada konsentrasi 20% yaitu sebesar  $13.06 \pm 0.301$  dan kemudian kelompok dengan pemberian ekstrak daun gandarusa pada konsentrasi 10% yaitu sebesar  $9.76 \pm 0.612$ , adapun nilai histologi folikel antral ovarium kiri paling rendah terdapat pada kelompok kontrol yaitu  $5.50 \pm 0.517$ .

Nilai histologi folikel antral ovarium kiri diuji normalitas sebaran data dengan Shapiro Wilk (n= 24 sampel) dengan hasil  $p > 0,05$ , mempunyai arti sebaran data histologi folikel antral ovarium kiri normal. Nilai histologi folikel antral ovarium kiri diuji homogenitas dengan Levene Test dengan hasil  $p = 0,359$

( $p > 0,05$ ), mempunyai arti nilai histologi folikel antral ovarium kiri homogen. Hasil pengujian menunjukkan bahwa data histologi folikel antral ovarium kiri normal dan homogen, maka dilakukan uji parametrik *one way ANOVA*. Hasil uji *one way ANOVA* menunjukkan bahwa nilai  $p = 0,000$  atau nilai  $p < 0,05$ , mempunyai arti bahwa nilai histologi folikel antral ovarium kiri pada empat kelompok terdapat perbedaan yang bermakna.

Nilai mean histologi folikel antral ovarium kanan paling tinggi adalah pada kelompok dengan pemberian ekstrak daun gandarusa pada konsentrasi 30% yaitu sebesar  $14.10 \pm 0.517$ , diikuti dengan kelompok dengan pemberian ekstrak daun gandarusa pada konsentrasi 20% yaitu sebesar  $13.06 \pm 0.350$  dan kemudian kelompok dengan pemberian ekstrak daun gandarusa pada konsentrasi 10% yaitu sebesar  $9.83 \pm 0.408$ , adapun nilai histologi folikel antral ovarium kanan paling rendah terdapat pada kelompok kontrol yaitu  $6.23 \pm 0.388$ .

Nilai histologi folikel antral ovarium kanan diuji normalitas sebaran data dengan Shapiro Wilk ( $n = 24$  sampel) dengan hasil  $p > 0,05$ , mempunyai arti sebaran data histologi folikel antral ovarium kanan normal. Nilai histologi folikel antral ovarium kanan diuji homogenitas dengan Levene Test dengan hasil  $p = 0,914$  ( $p > 0,05$ ), mempunyai arti nilai histologi folikel antral ovarium kanan homogen. Hasil pengujian menunjukkan bahwa data histologi folikel antral ovarium kanan normal dan homogen, maka dilakukan uji parametrik *one way ANOVA*. Hasil uji *one way ANOVA* menunjukkan bahwa nilai  $p = 0,000$  atau nilai  $p < 0,05$ , mempunyai arti bahwa nilai histologi folikel antral ovarium kanan pada

empat kelompok terdapat perbedaan yang bermakna. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara bermakna, dilakukan uji post-hoc LSD.

Tabel 5.2. Uji Post-Hoc LSD untuk Variabel Hormon Estradiol Endogen

	<b>P0</b>	<b>P1(10%)</b>	<b>P2 (20%)</b>	<b>P3 (30%)</b>
<b>P0</b>	-	0.000	0.000	0.000
<b>P1(10%)</b>	0.000	-	0.000	0.000
<b>P2(20%)</b>	0.000	0.000	-	0.000
<b>P3 (30%)</b>	0.000	0.000	0.000	-

Hasil penelitian ini menunjukkan pemberian ekstrak daun gandarusa berpengaruh terhadap peningkatan kadar hormon estradiol endogen dan terbukti kebenarannya.

Tabel 5.3. Uji Post-Hoc LSD untuk Variabel Histologi Folikel Antral Ovarium Kiri

	<b>P0</b>	<b>P1 (10%)</b>	<b>P2(20%)</b>	<b>P3(30%)</b>
<b>P0</b>	-	0.000	0.000	0.000
<b>P1(10%)</b>	0.000	-	0.000	0.000
<b>P2(20%)</b>	0.000	0.000	-	0.000
<b>P3(30%)</b>	0.000	0.000	0.000	-

Hasil penelitian ini menunjukkan pemberian ekstrak daun gandarusa berpengaruh terhadap perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium kiri menciit dan terbukti kebenarannya.

Tabel 5.4. Uji Post-Hoc LSD untuk Variabel Histologi Folikel Antral Ovarium Kanan

	<b>P0</b>	<b>P1(10%)</b>	<b>P2(20%)</b>	<b>P3(30%)</b>
<b>P0</b>	-	0.000	0.000	0.000
<b>P1(10%)</b>	0.000	-	0.000	0.000
<b>P2(20%)</b>	0.000	0.000	-	0.000
<b>P3(30%)</b>	0.000	0.000	0.000	-

Hasil penelitian ini menunjukkan pemberian ekstrak daun gandarusa berpengaruh terhadap perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium kanan mencit dan terbukti kebenarannya.

Tabel 5.5. Data Korelasi Hormon Estradiol Endogen dengan Ovarium Kiri

<b>Correlations</b>			
		Hormon Estradiol Endogen	Ovarium Kiri
Hormon Estradiol Endogen	Pearson Correlation	1	.934**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	24	24
Ovarium Kiri	Pearson Correlation	.934**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	24	24

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Tabel 5.6. Data Korelasi Hormon Estradiol Endogen dengan Ovarium Kanan

<b>Correlations</b>			
		Hormon Estradiol Endogen	Ovarium Kanan
Hormon Estradiol Endogen	Pearson Correlation	1	.939**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	24	24
Ovarium Kanan	Pearson Correlation	.939**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	24	24

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Berdasarkan data uji korelasi pearson antara data hormon estradiol endogen dengan histologi folikel antral ovarium kiri pada mencit betina diperoleh hasil nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ), berarti terdapat korelasi antara hormon estradiol endogen dengan histologi folikel antral ovarium kiri pada mencit betina. Nilai

*Pearson Correlation* adalah 0,934, ini menunjukkan bahwa korelasi antara kedua variabel (hormon estradiol endogen dengan histologi folikel antral ovarium kiri pada mencit betina) adalah sangat kuat.

Uji korelasi pearson antara data hormon estradiol endogen dengan histologi folikel antral ovarium kanan pada mencit betina diperoleh hasil nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ), berarti terdapat korelasi antara hormon estradiol endogen dengan histologi folikel antral ovarium kanan pada mencit betina. Nilai *Pearson Correlation* adalah 0,939, ini menunjukkan bahwa korelasi antara kedua variabel (hormon estradiol endogen dengan histologi folikel antral ovarium kanan pada mencit betina) adalah sangat kuat.

## **5.2. Pembahasan**

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun gandarusa yang diekstraksi dengan pelarut etanol 70% yang dilakukan di laboratorium PAU UGM Yogyakarta. Dosis pemberian diperoleh dari hasil konversi dosis marmut ke dosis mencit dengan faktor konversi mencit (0,08) menurut rumus tabel konversi Lawrence. Kemudian dosis mencit 0,08 dikalikan dosis pada penelitian sebelumnya ( $0,08 \times 6$ ) = 0,48 ml diberikan selama 28 hari.<sup>(30)</sup>

Nilai hormon estradiol endogen kelompok perlakuan (P3) dosis 0,144 ml dengan konsentrasi 30% lebih tinggi bila dibandingkan kelompok kontrol (P0). Hal ini dapat diartikan bahwa dosis pemberian ekstrak daun gandarusa yang mengandung isoflavon didalamnya berperan penting dalam kenaikan kadar estradiol endogen dalam tubuh. Flavanoid mengacu pada fitoestrogen karena ditemukan dari tumbuhan (fito) dan kemampuannya untuk bereaksi seperti hormon endogen pada tubuh manusia.<sup>(8)</sup> Mekanisme kerja fitoestrogen dalam

jaringan adalah dengan berikatan pada reseptor estrogen hal ini menyebabkan isoflavon dapat berikatan dengan *Receptor Estrogen* (RE), di hipofise anterior mensintesis GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) untuk menstimulus sekresi FSH (*Folicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*). Di bawah pengaruh FSH sel teka interna terus berdiferensiasi dan mensekresi androstenedion lebih banyak sehingga estrogen yang dihasilkan juga bertambah banyak. Atas pengaruh FSH dan LH kadar estradiol meningkat yang menyebabkan perubahan gambaran folikel antral ovarium menciit.

Semakin bertambahnya umur, jumlah oosit semakin berkurang hingga pada saat menopause jumlah oosit kurang dari seratus bahkan tidak ada. Hal tersebut juga diikuti oleh penuaan ovarium.<sup>(17)</sup>

Menurut Goldman and Klatz, proses penuaan tidak sama pada setiap orang. Kondisi ini berkaitan dengan adanya toksin dalam diet dan lingkungan. Disisi lain, hormon sangat dibutuhkan untuk memperbaiki dan mengatur fungsi tubuh. Menurunnya produksi hormon akibat penuaan, menyebabkan kemampuan tubuh untuk memperbaiki dan mengatur fungsi tubuh juga menurun.<sup>(43)</sup> Pangkahila menguraikan, pada tahap subklinik (umur 25-35) tahun sebagian besar hormon didalam tubuh seperti testosteron, *growth hormone*, dan estrogen mulai menurun.<sup>(44)</sup>

Peningkatan hormon estradiol endogen setelah perlakuan disebabkan oleh estrogen yang dihasilkan dari proses aromatisasi androgen terutama androstenedion dibawah pengaruh FSH. Atas pengaruh FSH dan estrogen, sel-sel teka interna folikel membentuk reseptor LH. Dibawah pengaruh LH, sel teka

tersebut menghasilkan androgen. Semakin banyak androgen yang dihasilkan, semakin banyak pula estrogen yang dibentuk. Meningkatnya estrogen menyebabkan aktifitas FSH dalam folikel semakin kuat, memberi umpan balik negatif ke hipofisis untuk menghambat sekresi FSH serta memfasilitasi pengaruh FSH dalam membentuk reseptor LH di sel granulosa, puncaknya FSH merangsang reseptor LH yang adekuat di sel-sel granulosa sehingga terjadi luteinisasi.<sup>(45)</sup> Semakin tinggi dosis pemberian isoflavon pada tubuh maka semakin banyak pula reseptor estrogen yang berikatan dengan isoflavon yang mengakibatkan efek estrogenik pada tubuh, sehingga terjadilah kenaikan kadar estradiol endogen.

Hasil uji *Kruskal Wallis* pada tabel 5.1. menunjukkan nilai p pada hormon estradiol endogen ( $p= 0,000$ ) nilai  $p < 0,05$  sedangkan hasil uji *One way Anova* pada histologi folikel antral kanan dan kiri nilai ( $p 0,000$ ) nilai  $p < 0,05$ . Nilai tersebut dinyatakan signifikan, dengan demikian dapat dikatakan pemberian ekstrak daun gandarusa dapat meningkatkan hormon estradiol endogen lebih tinggi dibandingkan pada kelompok kontrol yang di berikan aqudest. Pemberian ekstrak daun gandarusa juga dapat berpengaruh terhadap perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium mencit lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok kontrol dan teruji kebenarannya.

Hasil uji tersebut disebabkan oleh kemampuan flavonoid yang didalamnya mengandung Isoflavon dalam ekstrak daun gandarusa yang memiliki efek estrogenik. Aktivitas isoflavon sangat tergantung pada reseptor estrogen dalam tubuh. Isoflavon dapat berikatan dengan reseptor  $\alpha$  dan  $\beta$ estrogen. Afinitas

isoflavon sama dengan estrogen bila berikatan dengan reseptor  $\beta$  estrogen. Bila kadar estrogen dalam tubuh berkurang, isoflavon dapat mengambil alih efek estrogen.<sup>(46)</sup>

Nilai pada histologi folikel antral kanan dan kiri mencit pada kelompok perlakuan (P3) dengan dosis 0,144 mg lebih meningkat bila dibandingkan kelompok kontrol (P0) disebabkan karena terdapat perubahan diameter pada kelompok perlakuan (P3) yang semakin melebar dibandingkan kelompok kontrol (P0). Hal ini dapat diartikan bahwa dosis pemberian ekstrak daun gandarusa yang mengandung isoflavon didalamnya berperan penting dalam perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium. Tingginya kadar estrogen dalam folikel memberi umpan balik positif ke hipofise untuk menghasilkan lonjakan LH. Lonjakan LH tersebut menyebabkan terbentuknya progesteron di sel-sel granulosa. Turunnya kadar FSH menyebabkan folikel antral yang lebih kecil mengalami atresia, sedangkan folikel dominan terus tumbuh dengan mengakumulasi jumlah sel-sel granulosa dan reseptor FSH yang lebih banyak. Hormon estrogen yang dihasilkan juga meningkat karena bertambahnya jumlah sel folikel penghasil estrogen yang menyebabkan proliferasi endometrium dan perkembangan kelenjar endometrium yang digunakan sebagai nutrisi bagi ovum yang berimplantasi, sehingga dapat menurunkan keluhan fisik seperti keluarnya keringat, suhu tubuh meningkat, serta keluhan psikis seperti gugup, insomnia, sakit kepala, dan depresi serta cancer *mammae*.<sup>(10)</sup>

Hipotalamus dan hipofise mempunyai reseptor androgen dan estrogen. Namun afinitas RE ligan tersebut lebih rendah dibanding estrogen endogen sel

epitel dari jaringan reproduksi seperti ovarium. Isoflavon bersifat antagonis (inhibitor aktivitas estrogen) ketika kadar estrogen tinggi, sebaliknya isoflavon bersifat agonis ketika kadar estrogen rendah.<sup>(9)</sup> Isoflavon menunjukkan aktivitas biologi yang penting diantaranya meningkatkan kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium. Hormon estrogen yang dihasilkan juga meningkat karena bertambahnya jumlah sel folikel penghasil estrogen.<sup>(9)</sup> Pada saat menopause Jumlah folikel yang mengalami atresia terus meningkat, sampai suatu ketika tidak tersedia lagi folikel yang cukup. Produksi estrogen pun berkurang dan tidak terjadi haid lagi yang berakhir dengan terjadinya menopause. Oleh karena itu, efek peningkatan hormon estrogen terhadap uterus menyebabkan proliferasi endometrium dan perkembangan kelenjar endometrium yang digunakan sebagai nutrisi bagi ovum yang berimplantasi, sehingga dapat menurunkan keluhan fisik seperti keluarnya keringat, suhu tubuh meningkat, dan osteoporosis, serta keluhan psikis seperti gugup, insomnia, sakit kepala dan depresi serta *cancer mammae*.<sup>(10)</sup>

Penelitian ini dibandingkan dengan penelitian Rusmiatik penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun gandarusa meningkatkan jumlah folikel sekunder, dan mengurangi terbentuknya jumlah kista fungsional. Peningkatan jumlah folikel sekunder, dan mengurangi terbentuknya kista fungsional secara bermakna pada kelompok perlakuan, disebabkan kemampuan ekstrak daun gandarusa sebagai fitoestrogen dan antioksidan alami menghambat terbentuknya radikal bebas, sehingga melindungi DNA dan sel dari kerusakan.<sup>(5)</sup> Perbedaan penelitian ini terletak pada pemberian ekstrak daun gandarusa sebagai upaya meningkatkan hormon estradiol endogen dan perubahan

gambaran histologi folikel antral ovarium, sedangkan penelitian sebelumnya berpengaruh pada jumlah folikel sekunder dan mengurangi terbentuknya jumlah kista fungsional.

Berdasarkan data uji korelasi pearson antara data hormon estradiol endogen dengan histologi folikel antral ovarium pada mencit betina diperoleh hasil nilai  $p=0,000$  ( $p < 0,05$ ), berarti terdapat korelasi antara hormon estradiol endogen dengan histologi folikel antral ovarium pada mencit betina. Nilai *Pearson Correlation* adalah 0,934 dan 0,939 , ini menunjukkan bahwa korelasi antara kedua variabel (hormon estradiol endogen dengan histologi folikel antral ovarium pada mencit betina) adalah sangat kuat. Namun pengamatan penelitian ini dilakukan dalam keterbatasan yaitu penelitian ini tidak mengetahui kadar LH dan FSH serta tidak disertai uji toksisitas pada daun gandarusa sehingga perlu penelitian lebih lanjut.

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan tentang efek pemberian ekstrak daun gandarusa dengan konsentrasi 10%, 20% dan 30% selama 28 hari, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- 6.1.1. Pemberian ekstrak daun gandarusa berpengaruh terhadap peningkatan kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada mencit betina disebabkan karena terdapat perubahan diameter pada kelompok perlakuan (P3) yang semakin melebar dibandingkan kelompok kontrol (P0). Semakin tinggi dosis pemberian isoflavon pada tubuh maka semakin tinggi kadar estradiol endogen.
- 6.1.2. Terdapat perbedaan efek pemberian ekstrak daun gandarusa terhadap peningkatan kadar hormon estradiol endogen dan perubahan gambaran histologi folikel antral ovarium pada mencit betina.

#### **6.2. Saran**

- 6.2.1 Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kadar FSH dan LH terhadap peningkatan hormon estradiol endogen dan perubahan histologi folikel antral ovarium menjadi lebih melebar pada mencit betina.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Levina, Pakasi. *Menopause, Masalah dan Penanggulangannya*. Jakarta: Salemba Medika. 2002.
2. Safrina. Tetap Aktif di Masa Menopause. *Jurnal Bidan*. Vol. XIII no. 5. Penerbit Ikatan Bidan Indonesia. Jakarta. 2009.
3. Lyra Febrianda. *Efek Pemberian Ekstrak Daun Gandarusa Per Oral terhadap Spermatogenesis Mencit dan Keutuhan Tudung Akrosom Spermatozoa Mencit*. Aceh: Universitas Syiah Kuala. 2012.
4. Lukitawati, Nita; Fetri Lestari. *Efek Ekstrak Etanol Daun Gandarusa terhadap Sistem Reproduksi dan Kualitas Spermatozoa Serta Reverseibilitasnya pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster*. Bandung: Universitas Islam Bandung. 2008.
5. Rusmiatik. *Pemberian Ekstrak Daun Gandarusa (Justicia gendarusa, Burm f.) Menghambat Proses Penuaan Ovarium pada Marmut*. Denpasar: Universitas Udayana Denpasar. 2013.
6. Prajogo, B.E.W. *Aktivitas Antifertilitas Flavanoid Daun Justicia Gendarussa Burm.F*, Disertasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Skripsi Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta. 2002.
7. Styaningtyas, Eryna dan Estiasih, Teti. Roti Tawar Laktogenik, Perangsang ASI, Berbasis Kearifan Lokal Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L.) Merr*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2014. Vol. 2 No. 1 p. 121-131.
8. Susetyarini, E. Karakteristik dan Kandungan Senyawa Aktif Daun Beluntas (*Pluchea indica*). *Berkala Penelitian Hayati* Edisi Khusus. 2009. 3A:107-110.
9. Markaverich, B.M., B. Webb, C.L. Densmore dan R.R. Gregory. Effect of Coumestrol on Estrogen Reseptor Function and Uterin Growth in Ovariectomized Rats. *J. Environ. Health. Perspect.* 2005. 103 (6) : 574-581.
10. Suhargo, L. Efek Estrogenik Ekstrak Daun Handeuleum (*Graptophyllum pictum L. griff*) pada Histologi Uterus Mencit Betina Ovariectomi. *Berk. Penel. Hayati*. 2005. 10:107-110
11. Guyton, A.C., *Textbook of Medical Physiology tenth edition*, WB Saunders Company. 2000. 81: 1283-1302.
12. Baziad, A. *Menopause dan Andropouse*. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka. Sarwono Prawihardjo. 2003.
13. Sastrawinata, S., Martaadisoebrata, D., Wirakusuma, F.F., *Ilmu Kesehatan Reproduksi: Obstetri Patologi*. Jakarta: EGC. 2004.
14. Davis, R.B., B.A. Simco, C.A. Groudie, N.C. Parker, W. Couldwell, and P. Snellgrove. *Hormonal Sex Manipulation and Evidence for Female Homogamety in Channel Catfish*. *Gen. Comp. Endocr.* 2000. 78:219-223.
15. Eroschenko, V.P. *Atlas Histologi di Fiore dengan Korelasi Fungsional*. Edisi 9. Alih Bahasa: Tambiyong Jan: EGC. 2003. P. 58-56.
16. Gartner, L.P., Hiatt, J.L. *Color Textbook Of Histology*, WB sauners Company, 2001. 20:461-469.
17. Sadler, T.W. *Langman's Medical Embriology*. Philadelphia: Lippincot William & Willkins, 2004. p: 18-24.
18. Gordon, J.D. and Sperof L. *Hand Book For Clinical Gynecologic, Endocrynology, and Fertility*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2002. p 54 – 64.
19. Anantasika. *Fisiologi Menstruasi dalam : Megadhana Dan Kusuma, J. Editor. Kumpulan Makalah Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan Obstetri dan Ginekologi*, Denpasar 28-29 Oktober. 2005. p. 83-89.

20. Bulun, SE. And Adashi, E.Y. *The Physiology and Pathology of the Female Reproductive Axis*. In: Larsen, Kronenberg, Melmed, Polonsky. Williams Textbook of Endocrinology. 10 th. Ed. Philadelphia:Saunders. 2002.P.587- 608.
21. Wiknjosastro, Hanifa. *Ilmu Kebidanan*. Jakarta: Yayasan BinaPustaka.2005.
22. Sastroamidjojo, S., *Obat Asli Indonesia*. Penerbit Dian Rakyat, Jakarta. 2001.
23. Syamsuhidayat, S.S., Hutapea, R.J., *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Departemen Kesehatan R.I., Edisi 1, Jakarta. 2004.324.
24. Maidangkay, T., *Pemberian Infusa Rimpang Kencur (Kaemferia Glanga. L)Menghambat Perkembangan Folikel Mencit Betina Dewasa (Musmusculus)* (tesis). Program Pasca Sarjana Program Studi IlmuKedokteran Reproduksi Universitas Udayana.2008.
25. Zilliken, F.I *Production of Novel Isoflavons. Material Meeting, BMBF, Bonn, Germany* Available From <http://www.naturalwoman.com/phyto.htm>.2009.
26. Graham, T.L. dan Graham, M.Y. Glyceollin Elicitor Induce Major but Distinctly Different Shifts in Isoflavonoid Metabolism ih Proximal and Distal Soybean Cell Popolations. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 1991. Vol.4, No. 1.
27. Pradana, S., *Prospek dan Manfaat Isoflavon sebagai Fitoestrogen BagiKesehatan*. Available From <http://en.wikipedia.org>.2009.
28. Pocock, S.J. *Clinical Trials, A Practical Approach*, Cichestes, John Wiley & Sons.2008.
29. Darmayasa, G.B., *Pemberia Ekstrak Tanaman Gandarusa Menghambat Spermatogenesis marmut* (tesis). Pasca Sarjana Program Studi IlmuKedokteran Reproduksi Universitas Udayana.2008.
30. Natasha, F., *Pemberian Estrogen Menghambat Proses Penuaan Pada Ovarium Mencit* (tesis). Pasca Sarjana Program Studi Ilmu Kedokteran Reproduksi Universitas Udayana.2007.
31. Safrida, Nastiti Kusumorini, Wasmen Manalu, dan Hera Maheshwari. Penurunan Kadar Progesteron Serum dan Komponen Matriks Ekstraseluler dan Seluler Kulit Sebagai Indikator Penuaan PadaTikus. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 2013.Vol. 7 No. 1.
32. Lenny S. *Senyawa Flavonoid, Fenilpropanoida dan Alkaloida*. Medan: Fak. MIPA. USU.2006.
33. Masoh, Antuji H. *Pentingnya Nilai Tambah Produk Pagan*, Dalam buku Pertanian Mandiri. Penyunting Masroh, Antuaji, H. Penebar Swadaya, Jakarta.2010.
34. Markham.*Cara Identifikasi Flavonoid*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, hal 1-20, Penerbit ITB. Bandung.2008.
35. A. Setiawati, F.D. Suyatna, S. Gan, Farmakologi dan Terapi edisi 5 (cetak ulang dengan perbaikan.*Bagian Farmakologi*, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta, 2008, p.23.
36. Broekman F, Giovannetti E, dan Peters GJ, Tyrosine Kinase Inhibitors: Multi-Targeted or Single-Targeted?, *WJCO*.2011. 2(2), 80-93.
37. Harborne, J.B. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (alih bahasa: Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro). Bandung: Penerbit ITB.2006.
38. Adrien Jems Akiles Unitly dan Cerria Inara. Potensi Rumput Kebar (*Biophytum petersianum Klotzsch*) dalam Meningkatkan Kinerja Reproduksi. Prosiding Seminar Nasional.2011.
39. Harborne, J.B. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Terbitan Kedua. ITB. Bandung.1996.
40. Pambudi, A., Syaefudin., Noriko, Nita., Swandari, Risa dan Azura, Purwanty Rara. Identifikasi Bioaktif Golongan Flavanoid Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* L). *Jurnal AL-AZHAR INDONESIA SERI SAINS DAN TEKNOLOGI*, 2014.Vol . 2, No. 3.

41. Adlhani, Erfanur. Penapisan Kandungan Fitrokimia pada Buah Labu Kuning (*Cucurbita moschata*). *Jurnal Teknologi & Industri*.2014.Vol. 3, No. 1.
42. Hidajat, A., *Terapi Sulih Hormon Pada Menopause*. Simposium Gerontologi Medik II-Malang.2001.
43. Goldman, R dan Klatz. R. *The New Anti-Aging Revolution*. Malaysia: Printmate Sdn. Bhd. 2007.p. 19-25.
44. Pangkahila, W. *Anti Aging Medicin : Memperlambat Penuaan, Meningkatkan Kualitas Hidup*. Cetakan ke-1. Jakarta: Penerbit Buku Kompas. 2007.Hal : 1-3, 8-9, 37-40, 216.
45. Adnyana, P. *Menopause dan Permasalahannya* dalam: Megadhana dan Kusuma, J. Editor. Kumpulan makalah Pendidikan Kedokteran Berkelanjutan Obstetri dan Ginekologi. 2005.Denpasar 28-29 Oktober. p.90- 95.
46. Baziad, A. *Menopause dan Andropouse*. Jakarta:Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawihardjo.2003.
47. Greene, J.G. *Measuring the symptom dimension of quality of life : General and menopause specific scales and their subscale structure*. In: Schneider HPG, editor *HRT and quality of life*. The Parthenon Publising Group. Boca Raton, London, NY, Washington; 2003. Pp. 35-43.
48. Speroff et al. *Clinical Gynecologic Endokrinology and Infertility 7th Edition*. USA: Lippincott Williams & Wilkins. 2005.
49. Heffner, Linda J. dan Schust, Danny J. *At a Glance Sistem Reproduksi* (Alih Bahasa: dr. Vidhia Umami). Jakarta: Penerbit Erlangga. 2006.

**KOMISI BIOETIKA PENELITIAN KEDOKTERAN/KESEHATAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG SEMARANG**

Sekretariat : Gedung C Lantai I Fakultas Kedokteran Unissula

Jl. Raya Kaligawe Km 4 Semarang, Telp. 024-6583584, Fax 024-6594366

# Ethical Clearance

**No. 187/V/2017/Komisi Bioetik**

Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, setelah melakukan pengkajian atas usulan penelitian yang berjudul :

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK DAUN GANDARUSA (*Justicia gendarussa* Burm F.)  
TERHADAP KADAR HORMON ESTRADIOL, ENDORGEN DAN PERUBAHAN  
GAMBARAN HISTOLOGI POLIKEL ANTRAL OVARIUM PADA MENCIT BETINA**

Peneliti Utama : N'Mah Hidayatul Laili  
Pembimbing : Dr. dr. Taufiq R. Nasibun, M.Kes., Sp.And  
Dr. Ir. Triak Sumartawati, M.Kes

Tempat Penelitian : Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta

dengan ini menyatakan bahwa usulan penelitian diatas telah memenuhi prasyarat etik penelitian. Oleh karena itu Komisi Bioetika merekomendasikan agar penelitian ini dapat dilaksanakan dengan mempertimbangkan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki dan panduan yang tertuang dalam Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI tahun 2004.

Semarang, 29 Mei 2017

Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan

Fakultas Kedokteran Unissula

Ketua,

(dr. Sofwan Dahlan, Sp.P(K))



**UNIVERSITAS GADJAH MADA**  
**PUSAT STUDI PANGAN DAN GIZI**

No. : PSPG - UGM/DT/DPN/2017  
Hal. : 1/1

22 Mei 2017

Kepada  
Yth. Kepala Prodi Magister Biomedik (S-2)  
Fakultas Kedokteran UNISSULA  
Jl. Raya Kaligawa Km 4  
Semarang 50112

Dengan hormat,

Merujuk kepada surat Saadatu Husna Nomor : 065/1153-K/III/06/2017 perihal Permohonan Ijin Penelitian di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, sehubungan dengan Bekerja Penelitian. Telah

Nama : Siti Nur Hidayatul Laili  
NIM : 50011531010060  
Jenjang : Magister Biomedik, Fakultas Kedokteran UNISSULA Semarang

Judul : Dik. periferitas Daun Gambusia (Larva perikanan, Item f) Terhadap Kadar Hormon Estrogen Dan Gangguan Histologi Ovarium Pada Menet Betina

Waktu Ijin Penelitian : 25 Mei - 19 Juni 2017

Dengan ini kami bertaklukkan bahwa permohonan ijin penelitian tersebut dapat kami sepuji sepuji perkenan yang berlaku.

Diharapkan kami sepuji sepuji atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

  
*[Signature]*  
Prof. Dr. Umar Saifuddin, MSc.  
NIP: 1959021710485031002



LABORATORIUM PATOLOGI ANATOMI

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan di bawah ini, Bagian Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Islam Sultan Agung Semarang menyetujui bahwa mahasiswa tersebut

Nama : N'rah Hidayat Luthi

NIM : 15.5.01.00.60

Fakultas/Universitas : Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang

Judul Penelitian : EFEK PEMBERIAN DAUN GANDARUSA (*Gonolobos boninensis* Forst F.) TERHADAP KADAR HORMON ESTRADIOL, ENDOKRIN DAN PERUBAHAN GAMBARAN HISTOLOGI FOLIKEL ANTRAL OVARIUM PADA MENCIT BETINA

Telah melakukan, pembuatan preparat di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Islam Sultan Agung Semarang pada bulan Agustus 2017, hasil terlampir.

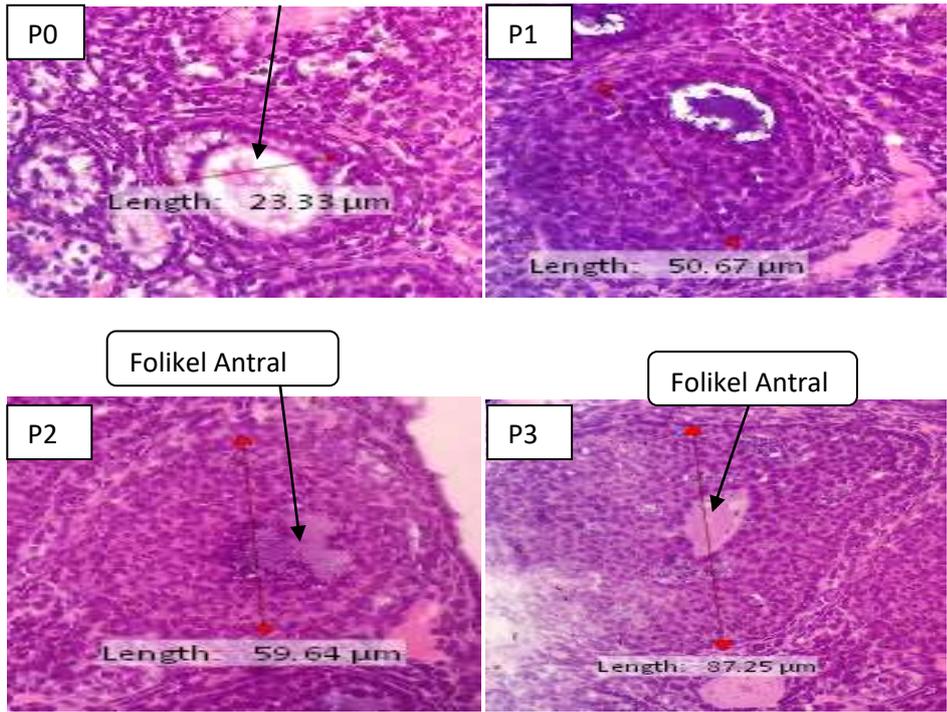
Demikian surat keterangan ini kami buat untuk digunakan sebagaimana perlunya.

Semarang, 29 Agustus 2017

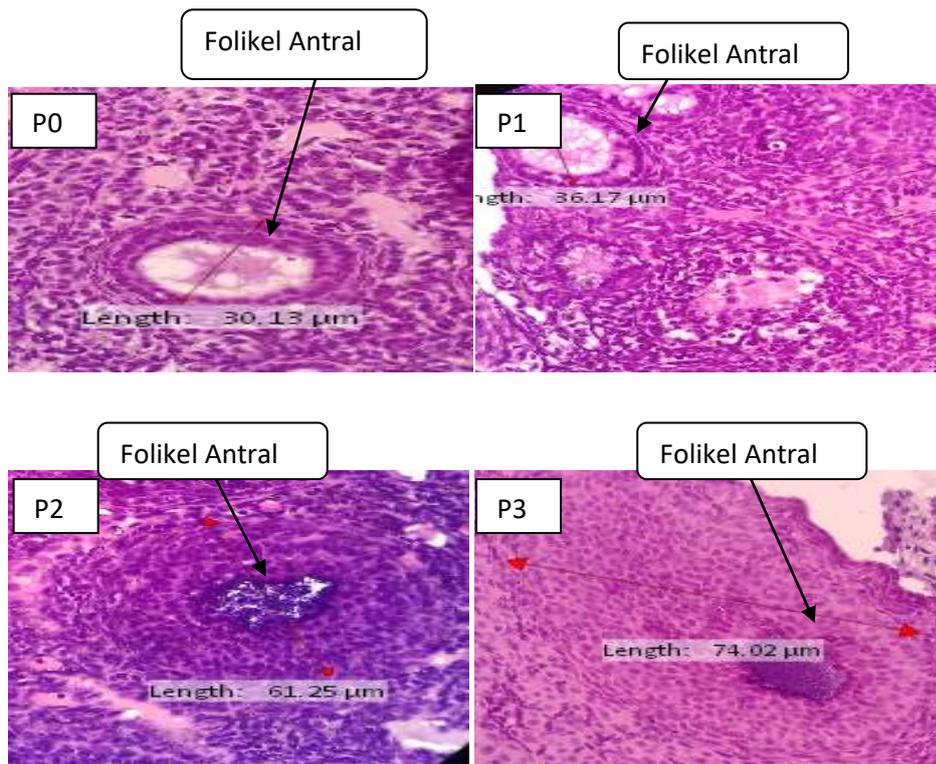


Lampiran 4 : Gambar Histologi Folikel Antral Ovarium Kiri Mencit





Histologi Folikel Antral Ovarium Kanan Mencit





**LABORATORIUM PATOLOGI ANATOMI**  
**HASIL PEMBACAAN**

Ovarium kewan

kelompok		Lapang Peridang				
		I	II	III	IV	V
kontrol	1	7	8	5	7	7
	2	8	4	5	7	8
	3	5	7	8	8	7
	4	8	7	8	7	8
	5	7	8	7	8	7
	6	8	7	7	8	7
Ekspos dan gendasan koma 10%	1	12	8	9	10	7
	2	9	12	8	12	8
	3	12	8	12	10	9
	4	10	9	12	12	10
	5	8	12	10	8	12
	6	12	8	12	10	9
Ekspos dan gendasan koma 20%	1	14	15	12	12	14
	2	12	12	12	14	12
	3	12	14	12	15	12
	4	15	12	12	12	15
	5	12	12	12	12	14
	6	12	12	14	12	14
Ekspos dan gendasan koma 40%	1	12	18	14	12	15
	2	18	12	12	14	15
	3	14	12	12	12	12
	4	18	14	12	15	12
	5	12	18	12	14	15
	6	12	14	18	15	14

Semarang, 19 Agustus 2016

  
Dr. Saiful Bahri, MSc, MEd, Sp.PA



**LABORATORIUM PATOLOGI ANATOMI**  
**HASIL PEMBAACAAN**

Ovarium kiri

kelompok		Layang Pandang				
		I	II	III	IV	V
kontrol	1	4	6	4	5	6
	2	4	3	7	6	4
	3	4	3	4	6	7
	4	5	6	5	7	6
	5	7	4	5	6	5
	6	5	7	6	7	7
Distribusi dan gambaran konsep 10%	1	6	9	7	9	10
	2	11	10	12	9	10
	3	10	9	8	12	10
	4	6	9	11	10	12
	5	10	12	8	10	8
	6	12	9	10	12	8
Distribusi dan gambaran konsep 10%	1	12	14	13	14	12
	2	13	13	14	15	11
	3	15	12	14	14	13
	4	14	13	14	12	11
	5	12	13	15	13	12
	6	13	15	14	13	11
Distribusi dan gambaran konsep 10%	1	12	14	15	14	15
	2	14	13	16	13	14
	3	16	14	13	15	13
	4	12	16	14	15	13
	5	14	15	13	14	15
	6	13	12	14	15	14

Sesuai 20 Agustus 2016

  
Dr. Setiana, MSc, Mod, Sp.PA



UNIVERSITAS GADJAH MADA  
FAKULTAS BIOLOGI  
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN

Jalan Sekeloa Selatan I No. 1, Yogyakarta 55246, Indonesia

SURAT KETERANGAN

Revisi: 0001/176/100/2017

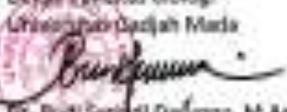
Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa:

Nama : N'ifah Hidayatul Laili  
NIM : 15 501 0060  
Asal instansi : Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang

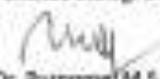
telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

Divisi : Magnoliophyta  
Class : Magnoliopsida  
Sub class : Asteridae  
Order : Scrophulariales  
Famili : Acanthaceae  
Genus : Justicia  
Species : Justicia gendarussa Burm  
Nama lokal : Gendarusa

Identifikasi tersebut dibantu oleh Abdul Rozq Chasani, S.Si., M.Si.  
Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan sepenuhnya.

Mengenal,  
Dekan Fakultas Biologi  
Universitas Gadjah Mada  
  
Dr. Budi Setiadi Darlyono, M.Agr.Sc.  
NIP. 197003261995121001

Yogyakarta, 18 Agustus 2017  
Kepala Laboratorium  
Sistematika Tumbuhan  
Fakultas Biologi UGM

  
Dr. Purnama, M.Si.  
NIP. 195804211962032005

Lampiran 7 : Dokumentasi Penelitian



Ekstrak kental daun gandarusa



Populasi Mencit Betina



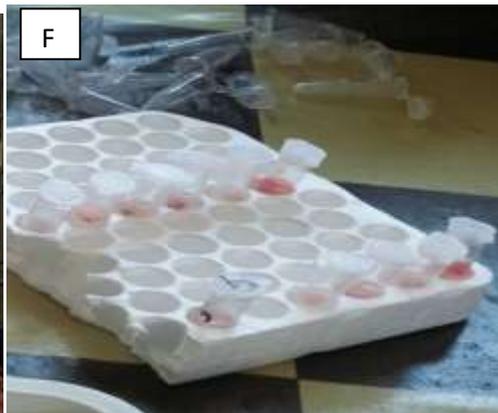
Mencit setelah dari tabung chloroform 100%



Pembedahan



Pengambilan Sampel Darah 0,5 cc  
Melalui Sinus Orbitalis Kanan Mencit



Tabung Eppendoft

**LAMPIRAN 8**

**HASIL UJI NORMALITAS**

# Explore

## Kelompok

**Case Processing Summary**

	Kelompok	Cases				
		Valid		Missing		Total
		N	Percent	N	Percent	N
Ovarium Kiri	Kontrol (P0)	6	100.0%	0	0.0%	6
	Perlakuan (P1)	6	100.0%	0	0.0%	6
	Perlakuan (P2)	6	100.0%	0	0.0%	6
	Perlakuan (P3)	6	100.0%	0	0.0%	6
Ovarium Kanan	Kontrol (P0)	6	100.0%	0	0.0%	6
	Perlakuan (P1)	6	100.0%	0	0.0%	6
	Perlakuan (P2)	6	100.0%	0	0.0%	6
	Perlakuan (P3)	6	100.0%	0	0.0%	6
Hormon Estradiol Endogen	Kontrol (P0)	6	100.0%	0	0.0%	6
	Perlakuan (P1)	6	100.0%	0	0.0%	6
	Perlakuan (P2)	6	100.0%	0	0.0%	6
	Perlakuan (P3)	6	100.0%	0	0.0%	6

**Tests of Normality**

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ovarium Kiri	Kontrol (P0)	.243	6	.200*	.881	6	.272
	Perlakuan (P1)	.355	6	.017	.809	6	.071
	Perlakuan (P2)	.254	6	.200*	.866	6	.212
	Perlakuan (P3)	.293	6	.117	.915	6	.473
Ovarium Kanan	Kontrol (P0)	.172	6	.200*	.912	6	.452
	Perlakuan (P1)	.175	6	.200*	.975	6	.926
	Perlakuan (P2)	.185	6	.200*	.974	6	.918
	Perlakuan (P3)	.257	6	.200*	.881	6	.272
Hormon Estradiol Endogen	Kontrol (P0)	.189	6	.200*	.931	6	.587
	Perlakuan (P1)	.301	6	.096	.734	6	.014
	Perlakuan (P2)	.200	6	.200*	.946	6	.710
	Perlakuan (P3)	.296	6	.108	.861	6	.192

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

## HASIL UJI HOMOGENITAS DAN ONEWAY ANOVA

### Oneway

		Descriptives					
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Ovarium Kiri	Kontrol (P0)	6	5.5000	.51769	.21134	4.9567	
	Perlakuan (P1)	6	9.7667	.61210	.24989	9.1243	
	Perlakuan (P2)	6	13.0667	.30111	.12293	12.7507	
	Perlakuan (P3)	6	14.1333	.20656	.08433	13.9166	
	Total	24	10.6167	3.46105	.70648	9.1552	
Ovarium Kanan	Kontrol (P0)	6	6.2333	.38816	.15846	5.8260	
	Perlakuan (P1)	6	9.8333	.40825	.16667	9.4049	
	Perlakuan (P2)	6	13.0667	.35024	.14298	12.6991	
	Perlakuan (P3)	6	14.1000	.51769	.21134	13.5567	
	Total	24	10.8083	3.16529	.64611	9.4717	
Hormon Estradiol Endogen	Kontrol (P0)	6	192.8333	59.21289	24.17356	130.6932	
	Perlakuan (P1)	6	589.5000	42.87540	17.50381	544.5050	
	Perlakuan (P2)	6	813.0000	11.86592	4.84424	800.5475	
	Perlakuan (P3)	6	1288.0000	10.73313	4.38178	1276.7363	
	Total	24	720.8333	405.67889	82.80886	549.5302	

### Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Ovarium Kiri	1.134	3	20	.359
Ovarium Kanan	.172	3	20	.914
Hormon Estradiol Endogen	4.343	3	20	.016

### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Ovarium Kiri	Between Groups	271.633	3	90.544	466.724	.000
	Within Groups	3.880	20	.194		
	Total	275.513	23			
Ovarium Kanan	Between Groups	226.898	3	75.633	427.304	.000
	Within Groups	3.540	20	.177		
	Total	230.438	23			
Hormon Estradiol Endogen	Between Groups	3757231.000	3	1252410.333	894.504	.000
	Within Groups	28002.333	20	1400.117		
	Total	3785233.333	23			

# Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95%
						Lower Bound
Ovarium Kiri	Kontrol (P0)	Perlakuan (P1)	-4.26667*	.25430	.000	-
		Perlakuan (P2)	-7.56667*	.25430	.000	-
		Perlakuan (P3)	-8.63333*	.25430	.000	-
	Perlakuan (P1)	Kontrol (P0)	4.26667*	.25430	.000	4
		Perlakuan (P2)	-3.30000*	.25430	.000	-3
		Perlakuan (P3)	-4.36667*	.25430	.000	-4
	Perlakuan (P2)	Kontrol (P0)	7.56667*	.25430	.000	7
		Perlakuan (P1)	3.30000*	.25430	.000	3
		Perlakuan (P3)	-1.06667*	.25430	.000	-1
	Perlakuan (P3)	Kontrol (P0)	8.63333*	.25430	.000	8
		Perlakuan (P1)	4.36667*	.25430	.000	4
		Perlakuan (P2)	1.06667*	.25430	.000	1
Ovarium Kanan	Kontrol (P0)	Perlakuan (P1)	-3.60000*	.24290	.000	-3
		Perlakuan (P2)	-6.83333*	.24290	.000	-6
		Perlakuan (P3)	-7.86667*	.24290	.000	-7
	Perlakuan (P1)	Kontrol (P0)	3.60000*	.24290	.000	3
		Perlakuan (P2)	-3.23333*	.24290	.000	-3
		Perlakuan (P3)	-4.26667*	.24290	.000	-4
	Perlakuan (P2)	Kontrol (P0)	6.83333*	.24290	.000	6
		Perlakuan (P1)	3.23333*	.24290	.000	3
		Perlakuan (P3)	-1.03333*	.24290	.000	-1
	Perlakuan (P3)	Kontrol (P0)	7.86667*	.24290	.000	7
		Perlakuan (P1)	4.26667*	.24290	.000	4
		Perlakuan (P2)	1.03333*	.24290	.000	1
Hormon Estradiol Endogen	Kontrol (P0)	Perlakuan (P1)	-396.66667*	21.60337	.000	-44
		Perlakuan (P2)	-620.16667*	21.60337	.000	-66
		Perlakuan (P3)	-1095.16667*	21.60337	.000	-114
	Perlakuan (P1)	Kontrol (P0)	396.66667*	21.60337	.000	35
		Perlakuan (P2)	-223.50000*	21.60337	.000	-26
		Perlakuan (P3)	-698.50000*	21.60337	.000	-74
	Perlakuan (P2)	Kontrol (P0)	620.16667*	21.60337	.000	57
		Perlakuan (P1)	223.50000*	21.60337	.000	17
		Perlakuan (P3)	-475.00000*	21.60337	.000	-52
	Perlakuan (P3)	Kontrol (P0)	1095.16667*	21.60337	.000	105

Perlakuan (P1)	698.50000*	21.60337	.000	65
Perlakuan (P2)	475.00000*	21.60337	.000	42

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## NPar Tests

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hormon Estradiol Endogen	24	720.8333	405.67889	125.00	1308.00
Kelompok	24	1.50	1.142	0	3

## Kruskal-Wallis Test

### Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
Hormon Estradiol Endogen	Kontrol (P0)	6	3.50
	Perlakuan (P1)	6	9.50
	Perlakuan (P2)	6	15.50
	Perlakuan (P3)	6	21.50
	Total	24	

### Test Statistics<sup>a,b</sup>

	Hormon Estradiol Endogen
Chi-Square	21.600
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Lampiran 9: Hasil Pemeriksaan Kadar Estradiol

No	Kode	OD	pg/ml	Standart	
				X pg/ml	Y OD
1	P0.1	1,387	220,00		
2	P0.2	1,477	130,00		
3	P0.3	1,327	280,00	0	2,112
4	P0.4	1,422	185,00	25	1,790
5	P0.5	1,482	125,00	100	1,458
6	P0.6	1,390	217,00	250	1,147
				500	0,839
7	P1.1	0,992	615,00	1000	0,540
8	P1.2	1,021	586,00	2000	0,269
9	P1.3	1,011	596,00		
10	P1.4	0,989	618,00		
11	P1.5	0,991	616,00		
12	P1.6	1,101	506,00		
13	P2.1	0,790	817,00		
14	P2.2	0,805	802,00		
15	P2.3	0,811	796,00		
16	P2.4	0,785	822,00		
17	P2.5	0,793	814,00		
18	P2.6	0,780	827,00		
19	P3.1	0,321	1286,00		
20	P3.2	0,299	1308,00		
21	P3.3	0,318	1289,00		
22	P3.4	0,326	1281,00		
23	P3.5	0,320	1287,00		
24	P3.6	0,330	1277,00		