



**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK BAYAM MERAH (*Amaranthus tricolor* L.)
DAN KACANG POLONG (*Pisum sativum* L.) TERHADAP JUMLAH FOLIKEL
OVARIVM DAN STRUKTUR HISTOLOGI USUS HALUS PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*)**

Septiana Tri Wulandari^{1*}, Tri Harjana¹

¹Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Negeri Yogyakarta

*E-mail: septianatri.2017@student.uny.ac.id

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dengan kacang polong (*Pisum sativum* L.) terhadap jumlah folikel ovarium dan struktur histologi usus halus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen, menggunakan hewan tikus putih betina sebanyak 20 ekor belum pernah kawin, memiliki berat sekitar 100-200 gram dan berumur \pm 2 bulan. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu kontrol (P0, tanpa perlakuan), P1 (25 mg/kg BB ekstrak bayam merah+ 75 mg/kg BB ekstrak kacang polong), P2 (50 mg/kg BB ekstrak bayam merah+ 50 mg/kg BB ekstrak kacang polong), dan P3 (75 mg/kg BB ekstrak bayam merah+ 25 mg/kg BB ekstrak kacang polong). Pemberian ekstrak dilakukan secara oral selama 21 hari. Data yang diamati yaitu jumlah folikel ovarium dan struktur histologi usus halus. Data yang diperoleh dianalisis dengan *One Way Anova*, dan jika terdapat beda nyata maka dilanjutkan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak bayam merah dan kacang polong berpengaruh nyata pada jumlah folikel primer, sekunder, ovulasi, dan folikel atresia ($p < 0.05$) dan tidak berpengaruh nyata pada jumlah folikel tersier, degraff, dan korpus luteum ($p > 0.05$). Kombinasi ekstrak tidak berpengaruh terhadap struktur histologi usus halus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) normal.

Kata kunci: ekstrak bayam merah dan kacang polong, folikel ovarium, tikus putih, usus halus

**THE EFFECT OF THE COMBINATION OF RED SPINACH EXTRACT
(*Amaranthus tricolor* L.) AND PEAS (*Pisum sativum* L.) ON THE NUMBER OF
OVARIAN FOLLICLES AND THE HISTOLOGICAL STRUCTURE OF THE
SMALL INTESTINE IN WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)**

Abstract. This study aimed to determine the effect of the combination of red spinach extract (*Amaranthus tricolor* L.) with peas (*Pisum sativum* L.) on the number of ovarian follicles and the histological structure of the small intestine in white rats (*Rattus norvegicus*). This study was experimental, using 20 female white rats that had never been mated, weighed about 100-200 grams, and were \pm 2 months old. Rats were divided into 4 treatment groups control group (P0, without treatment), P1 (25 mg/kg BW red spinach extract + 75 mg/kg BW pea extract), P2 (50 mg/kg BW red spinach extract + 50 mg/kg BW pea extract), and P3 (75 mg/kg BW red spinach extract + 25 mg/kg BW pea extract). The extract was administered orally for 21 days. The data collected were the number of ovarian follicles and the histological structure of the small intestine. *One Way Anova* analyzed the data obtained, and if there was a significant difference, the DMRT test (*Duncan's Multiple Range Test*) was continued. The results showed that the combination of red spinach and pea extract had a significant effect on the numbers of primary, secondary, ovulatory, and atretic follicles ($p < 0.05$) and no significant effect on the numbers of tertiary follicles, degraff, and corpus luteum ($p > 0.05$). In contrast, the combination of extracts had no significant effect on the histological structure of the small intestine.

Keywords: red spinach and pea extracts, ovarian follicles, white rats, small intestine

PENDAHULUAN

Sumber bahan pangan sayur-sayuran dan kacang-kacangan yang mengandung mineral, vitamin, zat besi, protein dan berbagai zat lainnya sangat diperlukan dalam menunjang perkembangan tubuh. Terlebih jika suatu sumber bahan pangan tersebut mengandung zat-zat tertentu yang dapat bermanfaat bagi kesehatan maupun sumber vitamin dan mineral bagi tubuh serta pengobatan. Jenis bahan pangan tersebut dapat ditemukan pada sayur dan kacang-kacangan seperti bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) dan kacang polong (*Pisum sativum L.*). Bahan pangan tersebut memiliki kandungan zat yang sangat kompleks, sehingga dapat dimungkinkan zat yang kurang baik dalam kacang polong dan bayam merah yang dikonsumsi secara bersamaan dapat berpengaruh pada tubuh. Zat kurang baik tersebut kecil kemungkinan dapat masuk dalam tubuh jika melewati proses pengolahan terlebih dahulu.

Secara umum, masyarakat sangat menggemari sayuran bayam dikarenakan kandungan nutrisi yang sangat tinggi. Bayam merah banyak mengandung vitamin A, B dan C, selain itu bayam banyak mengandung garam-garam mineral yang penting seperti kalsium, fosfor, dan besi. Bayam mengandung zat mineral yang tinggi yaitu zat besi untuk mendorong pertumbuhan badan dan menjaga kesehatan (Rizki, 2013).

Pengkonsumsian bayam merah juga perlu diperhatikan sebab jika terlalu banyak dan dalam jangka waktu yang lama seringkali dapat menimbulkan penyakit. Bayam juga mengandung zat yang bersifat merugikan, salah satunya adalah asam oksalat. Asam oksalat merupakan racun dalam bayam yang mampu mengikat nutrisi dalam tubuh. Hal ini menyebabkan mengkonsumsi makanan yang banyak mengandung asam oksalat secara berlebihan bisa mengakibatkan penghambatan penyerapan zat besi dan kalsium dalam tubuh (Haryadi, 2013). Selain asam oksalat, zat saponin juga terdapat pada bayam merah, yang dapat menyebabkan hemolisis eritrosit (sel darah merah), menghambat pertumbuhan, menghambat aktivitas sejumlah enzim, serta menghambat proses absorpsi (penyerapan) nutrisi di saluran pencernaan (Jayanegara, dkk, 2019).

Pada kacang polong terdapat suatu zat yaitu asam fitat yang memiliki efek antinutrisi (dapat menghambat penyerapan mineral pada saluran usus), hal ini dapat mengurangi ketersediaan mineral penting bagi tubuh (Davies, 1982). Selain asam fitat, kacang polong juga mengandung zat tannin di dalamnya. Jika zat tannin masuk ke dalam tubuh dalam konsentrasi yang tinggi akan menyebabkan efek toksik pada lambung. Toksisitas tannin yang tinggi kadarnya dapat menyebabkan kerusakan sejumlah organ seperti usus halus, hati, ginjal, dan limpa (Jayanegara, dkk, 2019).

Kacang polong (*Pisum sativum* L.) juga mengandung berbagai zat nutrisi yang bermanfaat bagi tubuh seperti, vitamin dan mineral. Kacang polong terdapat kandungan lain yang dapat berperan sebagai sumber menyerupai hormon yang dihasilkan oleh tubuh. Salah satu zat yang dapat dimanfaatkan untuk sistem hormonal tubuh yaitu fitoestrogen. Senyawa fitoestrogen merupakan senyawa yang berasal dari tumbuhan dan mirip dengan estrogen (17 β -estradiol). Fitoestrogen terdiri dari senyawa-senyawa fenolik seperti isoflavon, stilbene, coumestan, dan lignan. Fitoestrogen banyak ditemukan di kacang-kacangan, biji-bijian, buah-buahan, dan sayur-sayuran seperti kedelai, bawang putih, seledri, wortel, apel, delima, dan kopi. Senyawa ini memiliki sifat yang mudah dicerna oleh tubuh serta dimetabolisme oleh bakteri usus. Setelah dimetabolisme maka senyawa ini dapat diserap oleh usus, terkonjugasi di hati, melalui proses sirkulasi dalam darah, hingga akhirnya diekskresikan melalui urin (Aulia, dkk, 2024).

Aktivitas estrogen di dalam sel dimulai setelah terjadi ikatan estrogen dengan reseptor di dalam sitosol. Kompleks estrogen dan reseptor selanjutnya berdifusi ke dalam inti sel dan melekat pada DNA. Ikatan kompleks estrogen-reseptor dengan DNA menginduksi sintesis dan ekspresi mRNA berupa sintesis protein sehingga meningkatkan aktivitas sel target, yang ditunjukkan dengan terjadinya proliferasi sel (Campbell *et al.*, 2004).

Pertumbuhan folikel ovarium akan dipengaruhi oleh hormon gonadotropin yaitu *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) serta hormon estrogen yang akan memberikan umpan balik positif pada hipotalamus. FSH merangsang perkembangan folikel ovarium yang bekerja di dalam sel folikel ovarium yakni sel granulosa dan sel teka interna, dan juga memiliki reseptor untuk FSH di dalam sel granulosa tersebut. Dengan adanya FSH tersebut dapat merangsang sel granulosa dan sel teka interna yang sedang tumbuh mensekresikan estrogen. Estrogen yang dihasilkan kemudian merangsang perkembangan sel folikel lainnya (Campbell *et al.*, 2004).

FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*) dihasilkan oleh kelenjar hipofisis anterior pada pertengahan siklus reproduktif. Pada sel-sel granulosa, FSH berfungsi meningkatkan aktivitas enzimatik yang berguna mengkatalisa aromatisasi androgen atau sejenisnya untuk menghasilkan estrogen. Aktivitas ini diduga diatur dengan peningkatan kerja adenilatsiklase dan androgen. Estrogen (estradiol) yang disintesa oleh folikel dominan berperan juga meningkatkan kerja sel folikuler FSH guna meningkatkan respon LH. Selain menghasilkan estrogen, FSH berperan juga dalam pematangan telur khususnya pada tahap-tahap perubahan folikel (Anwar, 2005).

Usus halus merupakan organ penting dalam sistem pencernaan yang memiliki fungsi sebagai penyaring sari-sari makanan yaitu berupa nutrisi, mineral dan zat-zat yang berguna bagi tubuh. Menurut Amerongen (2010), lapisan luar usus halus adalah serosa, kecuali duodenum menempel pada dinding perut posterior melalui jaringan ikat longgar. Propria muskularis terdiri dari lapisan longitudinal luar dan lapisan sirkular dalam. Lapisan sirkular bagian dalam membentuk *sfincter* pada katup *ileocecal*. Submukosa duodenum (bukan jejunum atau ileum) mengandung kelenjar (kelenjar *Brunner*) yang mengeluarkan lendir yang kaya akan bikarbonat yang membantu melindungi usus halus dari isi lambung yang bersifat asam. Mukosa mempunyai epitel kolumnar sederhana yang berinvaginasi membentuk kript *Lieberkuhn*, dan berevaginasi membentuk vili. Submukosa dan mukosa usus halus membentuk lipatan melingkar, *plicae sirkular* (katup *Kerkring*), yang paling menonjol di jejunum. Lipatan tersebut merupakan lipatan permanen (tidak hilang ketika lumen penuh) dan bersama dengan vili mukosa, meningkatkan luas permukaan usus halus untuk pemrosesan isi lumen. Mikrovili berfungsi untuk menyerap nutrisi. Kerusakan mikrovili dan atrofi vili usus halus dapat mengganggu penyerapan nutrisi (*malabsorbition syndrome*).

Berdasarkan uraian di atas maka pada penelitian ini, zat antinutrisi yang terkandung dalam ekstrak bayam dan kacang polong bisa saja berpengaruh terhadap struktur histologi dari usus halus. Hal tersebut membuat peneliti memfokuskan penelitiannya pada pengaruh ekstrak terhadap folikel ovarium dan struktur histologi usus halus tikus putih. Berdasarkan penjelasan uraian tersebut, maka peneliti ingin melakukan penelitian dengan judul pengaruh kombinasi ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) dan kacang polong (*Pisum sativum L.*) terhadap jumlah folikel ovarium dan struktur histologi usus halus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2020 – Maret 2021. Tempat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain yaitu a). *Animal House*, Laboratorium Biologi FMIPA UNY untuk tempat pemeliharaan tikus putih; b). Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM untuk tempat pembuatan ekstrak biji kecipir dan ekstrak kacang polong; c). Laboratorium Patologi Anatomi, RS AMC Muhammadiyah Yogyakarta untuk tempat pembuatan preparat histologi organ; d). Laboratorium Mikroskopik Biologi FMIPA UNY untuk tempat pengamatan preparat histologi endometrium dan pengamatan profil darah tikus.

Objek Penelitian

Sampel yang digunakan yaitu 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jenis kelamin betina, galur wistar, berumur 2 bulan, dengan berat badan $\pm 100 - 200$ gram dan belum pernah bunting yang diberi perlakuan ekstrak biji kecipir dan kacang polong. Tikus ini didapatkan di Fakultas Farmasi UGM.

Prosedur Penelitian

Tikus dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu kontrol P0 (tanpa perlakuan), perlakuan I (P1) dengan pemberian kombinasi 25 mg/kg BB ekstrak bayam merah dan 75 mg/kg BB ekstrak kacang polong, perlakuan II (P2) dengan pemberian kombinasi 50 mg/kg BB ekstrak bayam merah dan 50 mg/kg BB ekstrak kacang polong, serta perlakuan III (P3) dengan pemberian kombinasi 75 mg/kg BB ekstrak bayam merah dan 25 mg/kg BB ekstrak kacang polong. Tikus diberi pakan dan minum secara ad libitum selama masa aklimatisasi 7 hari. Dilakukannya ulas vagina pada hari pertama sebelum pemberian ekstrak kecipir dan kacang polong sebagai tanda apakah tikus estrus atau tidak. Tikus dicekoki ekstrak bayam merah dan kacang polong rutin 1x setiap hari selama 21 hari. Setelah 21 hari pencekoki, kemudian dilakukan pembedahan pada hari ke-22 di saat tikus estrus. Kemudian dilakukan pengambilan organ ovarium dan usus halus untuk dibuat preparat di Laboratorium Patologi Anatomi RS AMC Muhammadiyah Yogyakarta.

Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan pada preparat ovarium dan usus halus, kemudian diambil dokumentasinya dan dilakukan perhitungan jumlah (buah) folikel ovarium dan jumlah sel yang mengalami kerusakan di usus halus, pengamatan dilakukan pada preparat kontrol dan perlakuan kombinasi ekstrak bayam merah dan kacang polong, dan keseluruhan hasil dianalisis.

Teknik Analisis Data

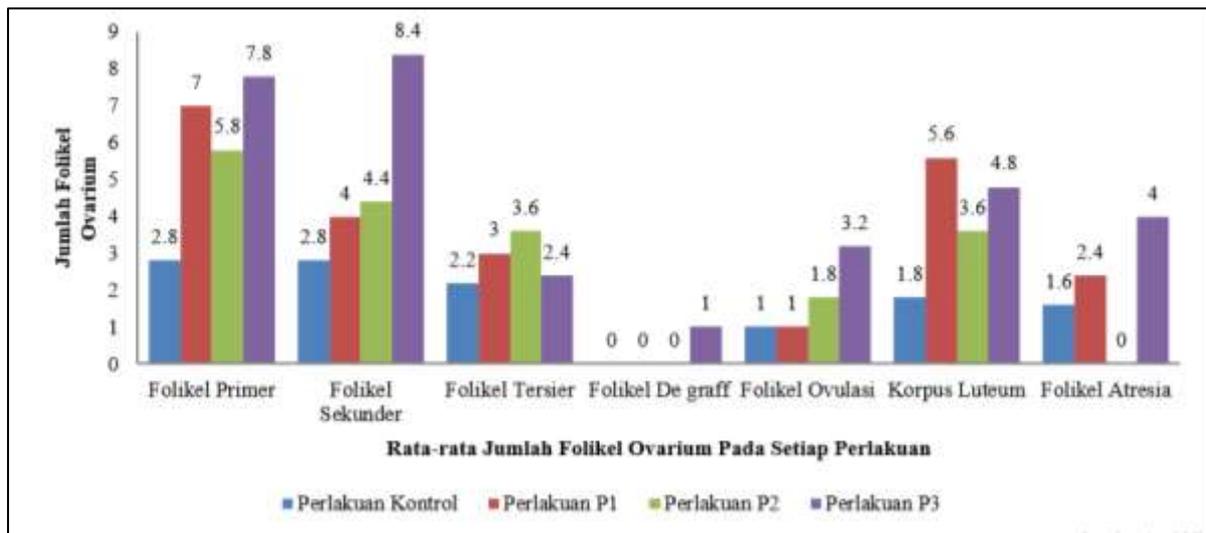
Hasil data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian *One Way Anova* dengan aplikasi SPSS versi 16.0. Apabila terdapat pengaruh nyata, maka analisis data dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT), sedangkan apabila tidak terdapat pengaruh nyata maka analisis data tidak dilanjutkan. Kemudian untuk data usus halus dianalisis menggunakan analisis deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pengamatan terhadap jumlah folikel ovarium dan struktur histologi usus halus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada penelitian ini dilakukan secara mikroskopis dengan menggunakan perbesaran 100x dan menggunakan teknik pewarnaan Hematoxilin-Eosin (HE). Adapun parameter yang diamati pada penelitian ini adalah organ ovarium dan usus halus. Organ ovarium dilihat dari jumlah masing-masing folikel yang sudah berkembang setelah pemberian kombinasi ekstrak bayam merah dan kacang polong. Folikel-folikel tersebut meliputi folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, folikel De Graff, folikel ovulasi, korpus luteum, dan folikel atresia. Untuk organ usus halus dilihat dari kemungkinan terjadinya kerusakan pada tunica mukosa atau pada lumennya setelah pemberian kombinasi ekstrak bayam merah dan juga kacang polong.

Hasil Perhitungan Jumlah Rata-Rata Folikel Ovarium Tikus Putih setelah Pemberian Kombinasi Ekstrak Bayam Merah dan Kacang Polong



Gambar 1. Diagram Rata-Rata Jumlah Folikel Ovarium Per Satuan Lapangan Pandang Organ Ovarium Tikus Putih setelah Pemberian Ekstrak Bayam Merah dan Kacang Polong

Berdasarkan hasil interpretasi data, kombinasi ekstrak bayam merah dengan kacang polong dapat berpengaruh nyata terhadap folikel ovarium yaitu folikel primer, folikel sekunder, folikel ovulasi, dan folikel atresia dengan hasil signifikansi yaitu 0,035; 0,042; 0,035; 0,017 ($p < 0,05$) akan tetapi tidak terdapat pengaruh nyata terhadap folikel tersier, folikel degraff, dan korpus luteum. Pengaruh nyata pada beberapa folikel ovarium disebabkan oleh kandungan fitoestrogen jenis flavonoid pada kacang polong.

Tabel 1. Hasil Uji Anova dan Uji DMRT terhadap Jumlah Folikel Ovarium Tikus Putih setelah Pemberian Ekstrak Bayam Merah dan Kacang Polong.

No	Variabel	Anova		DMRT	
		F	Sig.	Kelompok 1	Kelompok 2
1	Folikel primer	3.833	0.03	P0,P2	P2,P1,P3
2	Folikel sekunder	3.444	0.042	P0,P1,P2	P3
3	Folikel tersier	0.19	0.902	-	-
4	Folikel degraff	1.944	0.163	-	-
5	Folikel ovulasi	3.65	0.035	P0,P1,P2	P2,P3
6	Korpus luteum	1.851	0.179	-	-
7	Folikel atresia	4.606	0.017	P2,P0,P1	P1,P3

Fitoestrogen yaitu zat yang terkandung pada tanaman dan berfungsi seperti hormon estrogen dalam tubuh. Pada tanaman kacang polong dapat mengandung lebih dari satu jenis zat aktif fitoestrogen, untuk kacang kedelai banyak mengandung isoflavon akan tetapi ada hasil olahannya yang mengandung unsur fitoestrogen jenis kaumestan. Fitoestrogen ini akan diserap ke dalam tubuh dan mengalami berbagai perubahan seperti dapat diekskresikan atau dipecah menjadi komponen-komponen lain dalam tubuh yang diduga masih mengandung khasiat yang menyerupai hormon estrogen. Aktivitas dari zat yang mirip estrogen ini tidak berlangsung lama, dan pada umumnya tidak dapat lama disimpan oleh jaringan tubuh (Biben, 2012).

Fitoestrogen yang masuk ke dalam tubuh dapat mengikat reseptor estrogen yang tidak berikatan sehingga dapat berikatan dan meningkatkan seluler. Fitoestrogen itu sendiri memiliki cara kerja dengan meniru aktivitas dari hormon estrogen yang ada didalam tubuh. Estrogen yaitu hormon yang memiliki fungsi sebagai molekul sinyal. Prosesnya dimulai dari masuknya molekul estrogen melalui aliran darah menuju sel dari bermacam-macam jaringan dan merupakan target hormon estrogen tersebut (Eddy, 2006).

Di dalam sel target, molekul estrogen mencari reseptor estrogen untuk kemudian berintegrasi. Reseptor estrogen memiliki tempat yang spesifik dan dapat berikatan hanya dengan estrogen atau molekul lain yang memiliki struktur mirip dengan estrogen seperti fitoestrogen yang terkandung pada suatu jenis bahan makanan. Molekul estrogen yang dapat mengikat reseptor protein, membentuk suatu ikatan *ligand-hormon receptor*. Peristiwa tersebut dapat terjadi karena molekul estrogen dan reseptor memiliki bentuk yang sama untuk saling berikatan. Ikatan tersebut dapat memicu proses seluler yang spesifik, sehingga mengaktifkan gen spesifik. Selanjutnya gen tersebut dapat berfungsi untuk memicu agar proses pembentukan protein untuk metabolisme sel dapat berlangsung (Eddy, 2006). Reseptor estrogen (ER) dalam

ovarium terdapat pada inti sel granulosa, sel epitel germinal, sel interstitial, dan sel *techa* dari folikel primer, sekunder dan folikeli yang matang (Cheng *et al*, 2002).

Pertumbuhan folikel ovarium akan dipengaruhi oleh hormon gonadotropin yaitu *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormon* (LH) serta hormon estrogen yang akan memberikan umpan balik positif pada hipotalamus. FSH merangsang perkembangan folikel ovarium dimana FSH dapat berpengaruh dalam perkembangan folikel ovarium yang bekerja di dalam sel folikel ovarium yaitu sel granulosa dan sel teka interna, dan juga memiliki reseptor untuk FSH di dalam sel granulosa tersebut. Dengan adanya FSH tersebut dapat merangsang sel granulosa dan sel teka interna yang sedang tumbuh mensekresikan estrogen. Estrogen yang dihasilkan kemudian merangsang perkembangan sel folikel lainnya (Campbell *et al*, 2004).

Hormon estrogen sangat berpengaruh pada perkembangan folikel ovarium dimana hormon estrogen dihasilkan oleh sel *techa interna* dari folikel ovarium. Perkembangan serta pematangan folikel ovarium dan sekresi estrogen dikendalikan oleh hormon gonadotropin FSH dan LH. Estrogen yang disekresikan oleh ovarium akan mempengaruhi pelepasan hormon LH untuk mengovulasikan oosit pada fase estrus. LH berfungsi untuk merangsang korpus luteum pada ovarium sedangkan estrogen mempengaruhi sekresi hormon gonadotropin melalui umpan balik positif pada hipotalamus (McGee & Hsueh, 2000).

Perkembangan folikel berlangsung saat siklus terjadi pada fase diestrus (Aryulina & Muslim, 2006). Pada kondisi saat fase diestrus hormon progesterone meningkat sedangkan FSH maupun LH relatif rendah. Keseimbangan hormon sangat penting dalam mempengaruhi siklus estrus yang terjadi agar perkembangan folikel berjalan. Fase ini merupakan fase yang terpanjang untuk kembali lagi ke proestrus. Perkembangan folikel juga berlangsung pada fase ini, akan tetapi berjalan lambat dikarenakan konsentrasi dari FSH yang rendah tersebut. Siklus selanjutnya yaitu proestrus dimana perkembangan folikel akan cepat dikarenakan FSH meningkat. Saat folikel mengalami perkembangan juga melepaskan hormon estrogen. Meningkatnya hormon estrogen selama fase pra-ovulasi mengakibatkan suatu umpan balik negatif bagi FSH karena terhambat pelepasannya dari hipofisis. Konsentrasi FSH menurun mengakibatkan LH meningkat yang akan merangsang pelepasan oosit pada folikel de graff.

Folikel ovarium berkembang secara bertahap, folikel primer merupakan tahap awal dari perkembangan folikel ovarium. Dari semua jenis folikel, folikel primer memiliki ukuran paling kecil. Hanya terdapat 2 komponen yaitu oosit dan satu lapis sel granulosa. Pada folikel ini apabila belum mengalami perkembangan maka folikel primer akan mengalami dorman. Tahap selanjutnya yaitu folikel sekunder dengan ukurannya lebih besar dari folikel primer. Ditandai

dengan adanya lapisan granulosa yang lebih dari 1. Komponen dari folikel sekunder terdiri atas oosit, granulosa dan zona pelucida. Setelah dilakukan penelitian dan data diuji, pada hasil uji *One Way Anova*, untuk folikel primer dan sekunder menunjukkan nilai signifikansi 0.030 dan 0.042 ($p < 0.05$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak berpengaruh, dengan adanya kandungan fitoestrogen pada kacang polong seperti flavonoid kelompok isoflavon, dapat berfungsi meningkatkan jumlah folikel ovarium terutama folikel primer dan sekunder. Dapat dikatakan bahwa fitoestrogen yang terkandung pada tanaman kacang polong bekerja dengan baik.

Folikel tersier merupakan tahap berikutnya dalam perkembangan folikel ovarium setelah folikel sekunder. Perbedaan dari folikel sekunder dengan folikel tersier terletak pada celah yang berisi cairan folikuler, sehingga membuat ukuran dari folikel tersier lebih besar daripada folikel sekunder. Celah yang berisi cairan folikuler terbagi menjadi dua bagian yang dipisahkan oleh ovum.

Tahap berikutnya setelah folikel tersier yaitu folikel degraft. Pada folikel degraft ditandai dengan celah yang berisi cairan folikuler dengan ukuran lebih besar daripada folikel tersier. Ovum pada folikel degraft terletak pada tepi dan terhubung juga dikelilingi sedikit sel granulosa yang disebut korona radiata. Folikel degraft pada sel-sel granulosanya dapat menghasilkan hormon estrogen yang dapat membantu proses ovulasi dan pematangan, juga meningkatkan jumlah folikel degraft. Hasil data penelitian menunjukkan bahwa nilai signifikansi pada folikel tersier dan folikel degraft yaitu 0.902 dan 0.163 ($p > 0.05$). Ekstrak kombinasi tidak berpengaruh terhadap kedua folikel tersebut. Hal tersebut bisa saja terjadi dengan adanya faktor-faktor yang mempengaruhi perkembangan folikel atau adanya kerusakan saat folikel berkembang, seperti yang dikemukakan Nalbanov (1990) bahwa dalam perkembangan folikel ovarium tidak semua dapat berjalan secara normal. Pada ovarium terdapat beberapa folikel yang dapat mengalami degenerasi ataupun mengalami atresia. Adapun atresia folikuler tersebut mengiringi dalam pembentukan maupun pematangan folikuler sehingga atresia folikuler ini dapat ditemukan dan bisa terjadi pada semua tahapan pembentukan folikel ovarium.

Folikel ovarium yang sudah matang maka siap untuk berovulasi, dimana tikus sedang memasuki siklus estrus. Folikel ovulasi ditandai dengan celah yang berisi cairan folikel dan sudah tidak ada oositnya serta dikelilingi oleh sedikit lapisan sel granulosa. Hasil interpretasi data menunjukkan bahwa nilai signifikansinya adalah 0.035 ($p < 0.05$), sehingga ekstrak kombinasi berpengaruh pada folikel ovulasi. Ekstrak tersebut mengandung fitoestrogen isoflavon yang bekerja langsung dan dapat meningkatkan folikel ovulasi.

Korpus luteum merupakan tahap akhir dimana hanya terdapat komponen sel darah dan cairan limfa. Pada korpus luteum memiliki warna merah dan berukuran besar. Hasil pengujian menunjukkan signifikansi dengan nilai probabilitas 0.179 ($p > 0.05$). Ekstrak kombinasi bayam merah dengan kacang polong tidak berpengaruh pada korpus luteum. Banyak faktor yang mempengaruhi pada saat perkembangan folikel ovarium berlangsung.

Folikel atresia ditandai dengan bentuk dan ukurannya yang beragam. Biasanya folikel ini memiliki warna gelap. Atresia ini dapat terjadi pada semua tahapan perkembangan folikel. Folikel ini merupakan folikel yang telah rusak saat berkembang. Hasil interpretasi data menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.017 ($p < 0.05$). Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak kombinasi berpengaruh terhadap perkembangan folikel ovarium. Akan tetapi jika folikel atresia yang berjumlah banyak, menandakan bahwa ekstrak tersebut dapat mempengaruhi ketidakstabilan folikel ovarium untuk berkembang. Hal ini dapat disebabkan pada masa perubahan hormon tubuh saat pubertas, hamil dan juga melahirkan, bisa mengakibatkan kejadian atresia pada folikel ovarium.

Hasil pengujian lanjutan yaitu dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) menunjukkan bahwa kebanyakan antar kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang nyata. Uji DMRT pada folikel primer dan folikel sekunder menunjukkan bahwa perlakuan P3 terdapat beda nyata terhadap P0, P1 dan P2 serta P0, P1, dan P2 memiliki perbedaan yang nyata terhadap P3 dimana perlakuan P3 merupakan dosis III yaitu ekstrak bayam merah 75 mg/kg BB+ 25mg/kg BB ekstrak kacang polong. Berdasarkan hasil analisis tersebut, P3 memiliki pengaruh yang signifikan terhadap perkembangan folikel primer maupun sekunder. Dapat dilihat juga pada gambar diagram folikel primer maupun sekunder menunjukkan bahwa perlakuan P3 memiliki rata-rata jumlah folikel yang paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Data pada folikel ovulasi setelah diuji dengan Anova menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan, sehingga pada uji DMRT memiliki hasil perlakuan P3 terdapat beda nyata terhadap P0 dan P1. P0 dan P1 juga terdapat pengaruh beda nyata terhadap P3. Sama halnya dengan hasil dari folikel atresia setelah diuji lanjut yaitu perlakuan P3 berbeda nyata terhadap P2 dan P0. P2 dan P0 juga memiliki beda nyata terhadap P3. Perlakuan dengan dosis 3 kombinasi ekstrak bayam merah dan kacang polong memiliki pengaruh yang signifikan terhadap perkembangan folikel primer, sekunder, ovulasi, akan tetapi pada hasil folikel atresia merupakan pengaruh yang tidak baik pada ovarium karena folikel ini tidak dapat berkembang dan rusak.

Jika dilihat melalui diagram perfolikel perlakuan P3 berpengaruh pada perkembangan folikel primer, sekunder, ovulasi, dan atresia. Akan tetapi pada dosis perlakuan P3 ini

kombinasi bayam merah yang paling banyak dan kacang polong yang paling sedikit. Sedangkan pada kacang polong yang memiliki kandungan fitoestrogen kelompok isoflavon yang dapat berpengaruh seperti hormon estrogen, cenderung sedikit konsentrasinya. Jika dilihat pada bayam merah juga memiliki kandungan flavonoid yaitu (lutein dan kuersetin), sehingga fitoestrogen tersebut yang dimiliki bayam merah juga dapat bersifat estrogenik dan berpengaruh terhadap perkembangan folikel ovarium (Lingga, 2010).

Pada diagram folikel tersier maupun korpus luteum rata-rata jumlah paling tinggi yaitu pada perlakuan P1, dimana kombinasi ekstrak bayam merah dengan dosis 25 mg/kg BB ditambah 75 mg/kg BB ekstrak kacang polong. Adapun hasil uji Anova yang tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan, akan tetapi perlakuan P1 dengan ekstrak kacang polong yang lebih tinggi mempengaruhi perkembangan folikel tersier maupun korpus luteum. Dapat dikatakan bahwa kandungan isoflavon pada kacang polong dapat bereaksi dengan baik terhadap perkembangan folikel tersebut. Setelah dilihat secara keseluruhan, diagram yang memiliki jumlah rata-rata paling tinggi yaitu folikel primer dengan nilai sebesar 5.85. Sedangkan yang paling rendah yaitu folikel degraft dengan jumlah rata-rata folikel 0.35. Hal ini dapat terjadi disebabkan konsentrasi estrogen alami dalam tubuh itu sendiri sudah cukup dan ditambah dengan estrogen dari luar yang terkandung dalam tanaman, sehingga dapat dimungkinkan bertambahnya konsentrasi estrogen tersebut dapat menghambat perkembangan folikel ovarium, seperti halnya dengan folikel degraft. Hal tersebut dapat dijelaskan bahwa konsentrasi estrogen yang tinggi dapat memicu produksi LH sehingga LH juga naik, dan pada saat folikel berkembang pada tahap degraft dengan konsentrasi LH tersebut tahap perkembangan sudah memasuki tahap pelepasan folikel ovulasi dan membentuk korpus luteum.

Hasil Pengamatan pada Organ Usus Halus setelah Pemberian Ekstrak Kombinasi Bayam Merah dengan Kacang Polong

Hasil pengamatan menggunakan mikroskop untuk organ usus halus dilihat kemungkinan terjadinya kerusakan pada tunika mukosa atau pada lumennya setelah pemberian kombinasi ekstrak bayam merah dan juga kacang polong. Untuk hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua usus tikus putih dari perlakuan P0, P1, dan P2 maupun P3 tidak ditemukannya kerusakan, sehingga semua usus halus tikus putih pada masing-masing perlakuan normal.

Pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh zat asam oksalat dan saponin yang terkandung pada ekstrak bayam merah dan asam fitat, juga tanin pada kacang polong

terhadap struktur histologi usus halus. Menurut Haditomo (2010), tanin dapat menurunkan kemampuan mencerna makanan dengan cara menurunkan aktivitas enzim pencernaan (protease dan amilase). Tanin merupakan senyawa polifenol yang dapat membentuk suatu senyawa kompleks dengan protein. Zat tannin ini tidak dapat dicerna oleh lambung akan tetapi mempunyai daya ikat dengan protein, karbohidrat, vitamin, dan mineral (Ridwan, dkk, 2010). Menurut Danusulistyo (2011), saponin merupakan zat yang dapat menghambat kerja enzim, sehingga menyebabkan penurunan kerja organ pencernaan dan penggunaan protein. Sifat-sifat zat saponin yaitu dapat berbusa dalam air, juga mempunyai sifat detergen yang baik, memiliki sifat beracun bagi binatang berdarah dingin, mempunyai aktivitas hemolisis, akan tetapi tidak bersifat racun bagi binatang berdarah panas juga mempunyai sifat anti eksudatif dan mempunyai sifat anti inflamatori. Selain itu, saponin mempunyai kemampuan untuk merusak membran (Yunita, dkk, 2009).

Selain kandungan tannin dan saponin pada ekstrak bayam merah dan kacang polong, pada bayam merah juga mengandung zat yang juga berbahaya bagi tubuh yaitu asam oksalat. Asam oksalat di dalam tubuh dapat mengikat kalsium dan ini bisa mengakibatkan terganggunya kerja elektrik jantung, otot-otot, dan syaraf. Di samping itu, asam oksalat juga dapat menghambat penyerapan zat besi sehingga mempersulit penyerapannya, padahal zat besi merupakan komponen yang sangat diperlukan oleh tubuh. Kekurangan zat besi dapat menyebabkan seseorang menderita anemia dan gangguan pada pertumbuhan (Made, 2008). Pada kacang polong terdapat zat yaitu asam fitat terbukti memiliki efek antinutrisi yang dapat menghambat penyerapan mineral pada saluran usus, hal ini dapat mengurangi ketersediaan mineral penting bagi tubuh (Davies, 1982).

Kerusakan pada usus halus dapat disebabkan oleh bakteri, jamur, patogen, nutrisi, ataupun zat asing yang masuk ke dalam usus. Kerusakan ini karena adanya kelenjar pencernaan yang disebabkan oleh mekanisme tubuh secara alami untuk membersihkan usus dari parasit atau zat toksik tertentu. Proliferasi dan hiperplasia kelenjar pencernaan berperan sebagai pengeluaran zat asing yaitu dengan mengeluarkan musin (zat organik) kemudian menyimpan dan melepaskan musin ke lumen. Pengeluaran musin tersebut untuk menambah kapasitas lender dalam usus halus agar zat asing dapat dikeluarkan dari tubuh dengan cepat (Balqis *et al.*, 2007).

Sistem pertahanan di usus halus diawali dengan patogen yang ketika masuk ke dalam usus harus bersaing dengan organisme komensal untuk mendapatkan nutrisi dan ruang. Setelah berhasil bersaing dalam mendapatkan ruang, patogen harus bersaing lagi dengan lendir yang melapisi permukaan mukosa. Lendir tersebut dihasilkan oleh sel goblet di dalam epitel usus.

Selain sel goblet, beberapa jenis sel epitel lainnya berperan dalam pertahanan bawaan. Jenis sel epitel lainnya, sel paneth, terletak di bagian bawah kriptus usus, berperan menghasilkan protein seperti defensin anti mikroba. Selain itu, terdapat juga sel enteroendokrin yang berfungsi mengeluarkan molekul neuroendokrin yang memiliki efek parakrin sel di sekitarnya (Fauziah, dkk, 2023).

Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa pada semua perlakuan, tidak ditemukan adanya kerusakan pada bagian lapisan mukosa organ usus halus. Selain itu, dari gambar hasil pengamatan juga dapat diketahui bahwa struktur histologi dari usus halus yang telah diberikan perlakuan terlihat normal dan semua bagian-bagian usus halus masih utuh seperti vili, mukosa, submukosa, muskularis dan serosa. Zat berbahaya seperti tannin, saponin, dan asam oksalat yang terkandung dalam bayam merah maupun kacang polong dengan dosis yang diberikan setiap harinya tidak merusak struktur usus halus tikus putih. Hal ini dapat terjadi disebabkan berbagai faktor seperti dosis yang telah diberikan kurang efektif untuk merusak organ usus halus. Dalam kombinasi ekstrak digunakan kacang polong yang dengan penambahan ini dimungkinkan dapat menjadi faktor yang menyebabkan perlakuan tersebut tidak berpengaruh terhadap usus halus seperti ekstrak yang diberikan lebih besar kandungan zat-zatnya yang bermanfaat bagi tubuh.

Pembahasan

Pembahasan pada penelitian mengenai pengaruh kombinasi ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dan kacang polong (*Pisum sativum* L.) terhadap jumlah folikel ovarium dan struktur histologi usus halus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) mencakup beberapa poin penting:

Pengaruh Kombinasi Ekstrak terhadap Folikel Ovarium

Kombinasi ekstrak bayam merah dan kacang polong berpengaruh signifikan pada folikel primer, sekunder, ovulasi, dan atresia. Hal ini disebabkan oleh kandungan fitoestrogen, terutama flavonoid dalam kacang polong, yang bekerja seperti estrogen di dalam tubuh. Fitoestrogen ini meningkatkan proliferasi dan perkembangan sel folikel ovarium melalui mekanisme interaksi dengan reseptor estrogen, yang memicu sintesis protein untuk metabolisme seluler.

Tidak ditemukan pengaruh signifikan pada folikel tersier, folikel de Graff, dan korpus luteum. Hal ini mungkin disebabkan oleh faktor-faktor yang mempengaruhi perkembangan folikel atau adanya atresia folikel yang terjadi secara alami pada tahap-tahap tertentu perkembangan ovarium.

Peran Fitoestrogen

Fitoestrogen yang terdapat dalam kacang polong bekerja dengan meniru aktivitas hormon estrogen, yang sangat penting dalam perkembangan folikel ovarium. Fitoestrogen ini dapat berikatan dengan reseptor estrogen di dalam sel folikel dan memicu berbagai proses seluler yang mendukung perkembangan folikel. Estrogen yang disintesis oleh folikel berfungsi meningkatkan kerja sel folikel lainnya, mempercepat proses ovulasi, dan merangsang hormon luteinizing (LH) untuk mengovulasikan folikel.

Folikel Atresia

Folikel atresia, yang terjadi ketika folikel mengalami degenerasi, menunjukkan pengaruh negatif dari kombinasi ekstrak terhadap perkembangan ovarium pada tikus. Jumlah folikel atresia yang meningkat menandakan ketidakstabilan dalam perkembangan folikel ovarium, mungkin disebabkan oleh perubahan hormon selama fase siklus reproduksi.

Struktur Histologi Usus Halus

Tidak ada pengaruh signifikan dari kombinasi ekstrak terhadap struktur histologi usus halus pada tikus putih. Pengamatan pada lapisan mukosa usus tidak menunjukkan kerusakan, meskipun ekstrak bayam merah mengandung zat seperti asam oksalat dan saponin yang berpotensi merusak jaringan. Namun, kombinasi dengan kacang polong, yang juga mengandung zat bermanfaat, mungkin menyeimbangkan efek negatif ini, sehingga struktur usus halus tetap normal. Kombinasi ekstrak bayam merah dan kacang polong berpengaruh pada perkembangan beberapa jenis folikel ovarium, namun tidak mempengaruhi struktur histologi usus halus tikus putih.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) dan kacang polong (*Pisum sativum L.*) dapat berpengaruh nyata ($p < 0.05$) pada jenis folikel primer, sekunder, ovulasi, dan folikel atresia akan tetapi tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) pada jenis folikel tersier, degraff, dan korpus luteum. Pemberian ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) dan kacang polong (*Pisum sativum L.*) tidak berpengaruh terhadap struktur histologi usus halus pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

DAFTAR PUSTAKA

Amerongen, H.M. (2010). Gastrointestinal toxicology. In C.A. McQueen (Eds.). *Comprehensive toxicology*. Amsterdam: Elsevier Ltd.

- Anwar, R. (2005). *Morfologi dan fungsi ovarium*. Bandung: Bagian Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran.
- Aryulina, D., & Muslim, C. (2006). *Biologi*. Jakarta: Erlangga.
- Aulia, G., Miksusanti., Dewi, B.S., Rahmayanti, M., Esadini, A.R., Safrina, U., Ismaya, N.A., Rahajeng, S.K., Syarifuddin, S., Hasan, N., Dewantoro, A., Wirastuti, A., & Angeline, R.E. (2024). *Nutraceutical*. Yogyakarta: AG Publishing.
- Balqis, U., Tiuria, R., Priosoeryanto, B.P., & Darmawi. (2007). Proliferasi sel goblet duodenum, jejunum, dan ileum ayam petelur yang diimunisasi dengan protein ekskretori/sekretori *Ascaridia galli*. *J. Ked. Hewan*, 1(2), 70-75.
- Biben. (2012). *Fitoestrogen: Khasiat terhadap sistem reproduksi, non reproduksi, dan keamanan penggunaannya*. Paper presented at the Prosiding Seminar Ilmiah Nasional in Universitas Padjajaran, Bandung.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., & Mitchell, L.G. (2004). *Biologi Edisi Kelima Jilid 3*. Jakarta: Erlangga.
- Cheng, G., Weihua, Z., Makinen, S., Makela, S., Saji, S., Warner, M., Jan-Ake, G., & Hovatta, O. (2002). A role for the androgen receptor in follicular atresia of estrogen receptor beta knockout mouse ovary. *Biol Repro*, 66(1): 77-84. doi: 10.1095/biolreprod66.1.77.
- Danusulistyo, M. (2011). Uji larvasida ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera* L.) terhadap kematian larva nyamuk *Anopheles aconitus* Donitz. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah, Surakarta.
- Davies, H.L. (1982). *Nutrition and growth manual*. Melbourne: Australian University International Development Program.
- Eddy, S. (2006). Fitoestrogen/HRT: Pro dan kontra. *Jurnal Ilmiah*. Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- Fauziah, P.N., Mainassy, M.C., Ode, I., Affandi, R.I., Cesa, F.Y., Umar, F., Prajawanti, K.N., Rohmah, M.K., Achmad, A.F., Rahim, A., Setyono, B.D.H., Hendra, G.A., & Setiyabudi, L. (2023). *Imunologi*. Bandung: Widina Bhakti Persada Bandung.
- Haditomo, I. (2010). Efek larvasida ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap *Aedes aegypti* L. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Haryadi, J. (2013). *Fakta buah dan sayur yang berbahaya*. Jakarta: Niaga Swadaya.
- Jayanegara, A., Ridla, M., Laconi, E.B., & Nahrowi. (2019). *Komponen antinutrisi pada pakan*. Bogor: IPB Press.
- Lingga, L. (2010). *Cerdas memilih sayuran*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.
- Made, A. (2008). *Sehat dengan sayuran*. Bandung: PT. Dian Rakyat.
- McGee, E.A., & Hsueh, A.J. (2000). Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrine rev*, 21(2): 200-214. doi: 10.1210/edrv.21.2.0394.
- Nalbanov, A.V. (1990). *Fisiologi reproduksi pada mamalia dan unggas*. Jakarta: UI-Press.
- Ridwan, Y., Satrija, F., Darusman, L., & Handharyani, E. (2010). Efektivitas anticestoda ekstrak daun miana (*Coleus blumei* Benth) terhadap cacing *Hymenolepis microstoma* pada mencit. *Media Peternakan*, 33(1): 6-11.
- Rizki, F. (2013). *The miracle of vegetables*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.
- Yunita, E., Suprapti, N., & Hidayat, J. (2009). Pengaruh ekstrak daun teklan (*Eupatorium riparium*) terhadap mortalitas dan perkembangan larva *Aedes aegypti*. *Bioma*, 11(1): 11-17.