

PENGARUH EKSTRAK KACANG PANJANG (*Vigna sinensis*, L.) TERHADAP JUMLAH KELENJAR DAN KETEBALAN LAPISAN ENDOMETRIUM TIKUS PUTIH BETINA (*Rattus norvegicus*, L.)

THE INFLUENCE OF *Vigna sinensis* (L.) EXTRACT TO THE AMOUNT OF GLANDS AND THE THICKNESS OF ENDOMETRIUM LAYER IN FEMALE WHITE RAT (*Rattus norvegicus*, L.)

Oleh:

Rahma Berlianti Suardi

Jurusan Pendidikan Biologi Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Karangmalang Yogyakarta 55281

E-Mail: rhimasuardi@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kacang panjang (*Vigna sinensis*, L.) terhadap jumlah kelenjar dan ketebalan lapisan endometrium tikus putih betina (*Rattus norvegicus*, L.). Desain penelitian ini adalah eksperimen satu faktor yang menggunakan pola acak lengkap. Objek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih betina yang berumur 2 bulan, berat badan \pm 200 gram. Tikus dibagi ke dalam 4 kelompok dengan masing-masing kelompok menggunakan 5 ekor tikus sebagai ulangan, yaitu kontrol (tanpa pemberian ekstrak kacang panjang), P1 (280 mg/ekor tikus/hari), P2 (560 mg/ekor tikus/hari), P3 (1120 mg/ekor tikus/hari). Variabel tergayut dalam penelitian ini adalah jumlah kelenjar dan ketebalan lapisan endometrium uterus tikus putih betina. Perlakuan dilakukan selama 21 hari secara oral. Ekstrak kacang panjang dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ketebalan endometrium di analisis dengan analisis *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pengaruh perlakuan. Apabila terdapat pengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk membedakan antara kelompok perlakuan. Sedangkan, untuk menganalisis pengaruh perlakuan terhadap jumlah kelenjar endometrium dilakukan Uji *Kruskal-Wallis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kacang panjang memberikan pengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap jumlah kelenjar endometrium dan ketebalan lapisan endometrium tikus putih.

Kata kunci: Ekstrak kacang panjang, jumlah kelenjar endometrium, tebal lapisan endometrium, tikus putih betina

Abstract

This research aims to find out influence of *Vigna sinensis* (L.) extract to the amount of gland and the thickness of endometrium layer in white rat (*Rattus norvegicus*, L.). Design of this experiment is completely randomized design. The object of the research are 2 months old female white rat, weight \pm 200 gram. Those rat are divided into 4 treatment group, those are controlling (without extract), P1 (280 mg/rat/day), P2 (560 mg/rat/day), P3 (1120 mg/rat/day). Dependent variable in this research are the amount of glands and the thickness of endometrium layer in female white rat. Treatment have been done for 21 days orally. *Vigna sinensis* (L.) extract prepared by maceration method using ethanol 70%. Analysis *One Way Anova* used to analyze the influence of *Vigna sinensis* (L.) extract to the thickness of endometrium layer treatment, if the effect was significant continued by *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) to analyze the difference between treatments. Whereas *Kruskal Wallis* test used to analyze the influence of *Vigna sinensis* (L.) extract to the amount of endometrium glands. The result shows that *Vigna sinensis* (L.) extract have a significant effect ($p < 0,05$) to the amount of endometrium glands and the thickness of endometrium layer in white rat.

Keywords : *Vigna sinensis* (L.) extract, endometrium glands, thickness endometrium layer, female white rat

PENDAHULUAN

Hormon adalah zat kimia yang diproduksi oleh kelenjar endokrin. Estrogen adalah salah satu hormon yang berperan dalam

reproduksi hewan betina. Estrogen merupakan hormon steroid dengan C-18 dan cincin A adalah aromatik. Fitoestrogen merupakan bahan alami yang diketahui memiliki struktur yang paling

mirip dengan estrogen dan memiliki aktivitas estrogenik dan antiestrogenik (Melda, 2012: 3). Pada umumnya buah kacang-kacangan mengandung senyawa isoflavon yang bersifat estrogenik. Salah satunya adalah kacang panjang (*Vigna sinensis* L.)

Tanaman kacang panjang mengandung fitoestrogen yang mempunyai 2 gugus hidroksil (-OH) berjarak 11,0-11,5Å, sama dengan estrogen (Achadiat, 2003). Oleh karena itu, fitoestrogen dapat berikatan dengan reseptor estrogen dan memberikan efek estrogenik (Hernawati, 2014:2). Kacang panjang (*Vigna sinensis* L.) mengandung flavonol, glikosida dan antosianidin (Wong and Chang, 2004; Lattanzio *et al.*, 2000). Kacang panjang juga mengandung protein, karbohidrat, lemak, kalsium, besi, fosfor, potasium, sodium, vitamin B1, vitamin B2, vitamin C, dan niasin (Handri dan Rafira, 2003).

Hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus putih betina yang belum pernah mengalami kebuntingan. Penggunaan tikus putih jenis *Rattus norvegicus* sebagai hewan coba dikarenakan tikus putih mudah dipelihara, memiliki siklus estrus berkisar 4-6 hari dan memiliki lama masa kebuntingan antara 21-22 hari. Selain itu juga karena anatomi dan fisiologi dari organ-organ tubuh tikus putih yang sistematis kerjanya, hampir sama dengan fungsional anatomi organ manusia.

Kacang panjang (*Vigna sinensis*, L.) merupakan tanaman yang banyak mengandung senyawa fitoestrogen yang mampu berikatan dengan reseptor estrogen dan memberikan efek estrogenik. Kacang panjang mengandung senyawa isoflavon, empat macam glikosida

flavonol dan enam macam antosianin (Wong, Chang, 2004). Menurut Meiyanto, Handayani, Jenie (2008) ekstrak etanol 70% buah kacang panjang 1000 mg/kg bb tikus yang setara dengan 200 mg/200 g bb tikus memberikan efek fitoestrogen yang cukup signifikan yakni mampu meningkatkan bobot uterus, meningkatkan perkembangan lobulus hingga 2 kali lipat dan mampu meningkatkan ekspresi reseptor estrogen pada sel epitel duktus dan lobulus payudara tikus. Banyaknya kandungan fitoestrogen pada tanaman ini salah satunya flavonoid berupa isoflavon dapat berinteraksi dengan reseptor estrogen endogen. Adanya estrogen endogen ini dapat menyebabkan fase proliferasi ditandai dengan kenaikan ukuran tebal sekaligus pertambahan jumlah kelenjar endometrium uterus tikus putih betina (Martdentri, 2015:2).

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kacang panjang secara oral terhadap jumlah kelenjar dan ketebalan lapisan endometrium pada tikus putih betina yang belum pernah mengalami kebuntingan.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimen satu faktor menggunakan pola acak lengkap.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan bulan Desember 2015 sampai Maret 2016. Pembuatan ekstrak kacang panjang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM. Pemeliharaan tikus putih dilakukan di Unit Pengelolaan Hewan Laboratorium Biologi FMIPA UNY. Pembuatan preparat histologik organ dilakukan di Laboratorium Patologi dan

Anatomi Fakultas Kedokteran UGM. Pengamatan preparat histologikendometrium dilakukan di Laboratorium Mikroskopik Jurdik Biologi FMIPA UNY.

Target/Subjek Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*, L.) betina galur *wistar*. Sampeldalam penelitian ini adalah 20 ekor tikus putih betina belum pernah bunting berumur 2 bulan dengan berat badan rata-rata 200 gram.

Prosedur

Tahap persiapan antara lain persiapan kandang, persiapan hewan uji, aklimasi, pembuatan ekstrak kacang panjang dengan teknik maserasi, perhitungan dosis. Tahap pelaksanaan antara lain pemberian ekstrak kacang panjang, pembuatan preparat apus vagina, pembuatan preparat histologik uterus dan pengamatan preparat histologik uterus.

Data, Instrumen, dan Teknik Pengumpulan Data

Data dalam penelitian merupakan data kuantitatif. Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah 4 kandang tikus dilengkapi tempat pakan dan botol minum, timbangan analitik, *cotton bud*, gelas benda, gelas penutup, pipet tetes, mikroskop cahaya, bak paraffin, gunting, scalpel, pinset, kapas, cawan petri, mikroskop cahaya, kamera digital, mikrometer okuler dan objektif. Bahan yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina berumur 2 bulan dengan berat badan rata-rata 200 gram, pakan tikus, air, formalin, kloroform, ekstrak kacang panjang, aquadest dan NaCl fisiologis.

Pengamatan siklus estrus tikus dilakukan sebelum dan sesudah dilakukan perlakuan selama 21 hari untuk mengetahui tikus mana yang sedang dalam fase estrus, jika telah diketahui tikus mana yang sedang dalam masa estrus maka perlakuan dapat segera dilakukan dan setelah 21 hari perlakuan jika telah diketahui tikus mana yang sedang dalam fase estrus, maka dilakukan pembiusan kemudian pembedahan untuk kemudian diambil organ uterus yang akan dibuat menjadi preparat histologik.

Preparat histologik uterus selanjutnya dilakukan pengamatan kuantitatif menggunakan mikroskop cahaya meliputi perhitungan jumlah kelenjar dan pengukuran ketebalan lapisan endometrium.

Teknik Analisis Data

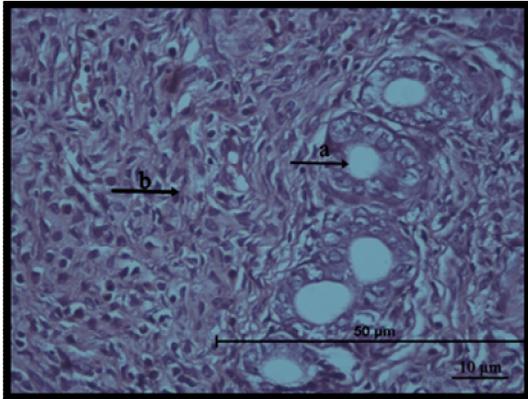
Data jumlah kelenjar endometrium dianalisis menggunakan analisis nonparametrik *kruskal-wallis* untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kacang panjang terhadap jumlah kelenjar endometrium.

Data ketebalan endometrium dianalisis dengan analisis statistik *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh ekstrak kacang panjang terhadap ketebalan endometrium tikus putih, selanjutnya apabila terdapat pengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan rerata antar kelompok kontrol dengan masing-masing kelompok perlakuan. Analisis dilakukan dengan bantuan program SPSS 16.

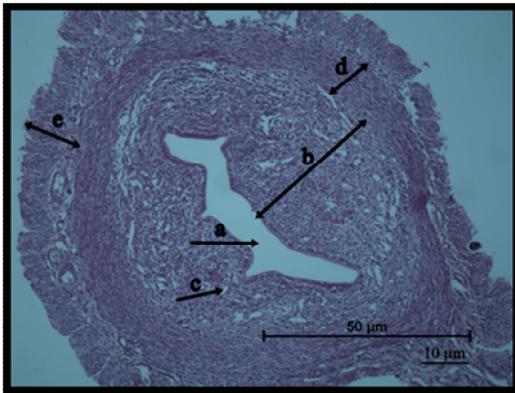
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Struktur Histologik Uterus Tikus Putih Betina

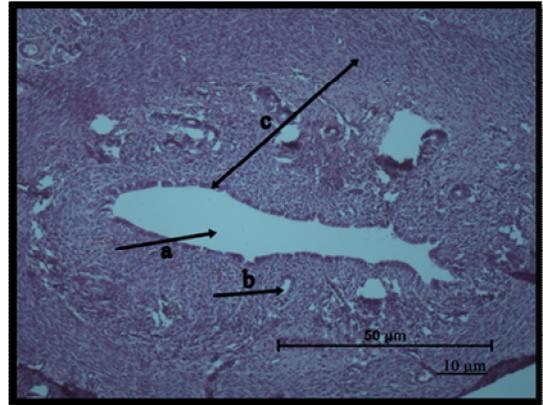
Gambaran histologik dari uterus tikus putih betina diperoleh dengan melakukan pengamatan menggunakan mikroskop. Struktur histologik uterus tikus putih betina dapat dilihat pada gambar dibawah ini, sebagai berikut :



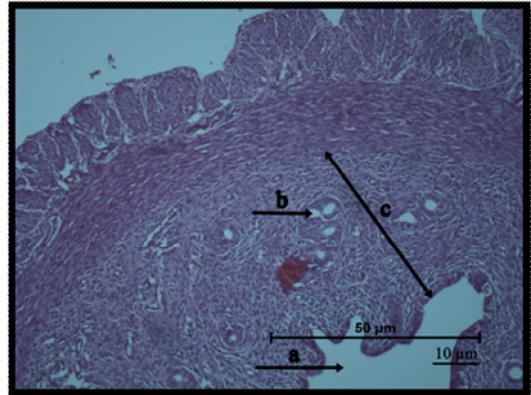
Gambar 1. Mikrofotograf sayatan melintang endometrium tikus putih betina sesudah pemberian ekstrak kacang panjang: a.kelenjar endometrium, b. Jaringan ikat longgar (HE, 400X).



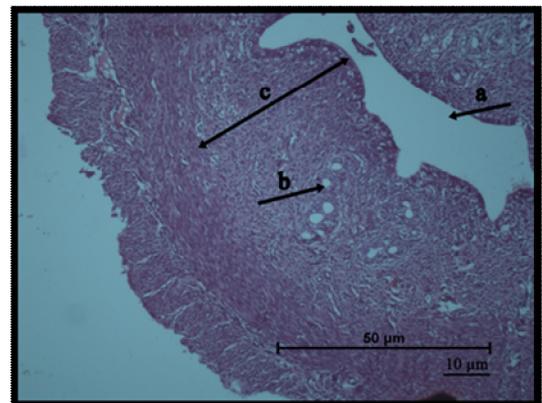
Gambar 2. Mikrofotograf sayatan melintang uterus tikus putih betina. Kelompok kontrol : a. lumen b. endometrium c. kelenjar endometrium d. miometrium e. perimetrium (HE, 100X).



Gambar 3. Mikrofotograf sayatan melintang uterus tikus putih betina sesudah pemberian ekstrak kacang panjang. Kelompok P1: a. lumen b. kelenjar endometrium c. endometrium (HE, 100X).



Gambar 4. Mikrofotograf sayatan melintang uterus tikus putih betina sesudah pemberian ekstrak kacang panjang. Kelompok P2: a. lumen b. kelenjar endometrium c. endometrium (HE, 100X).



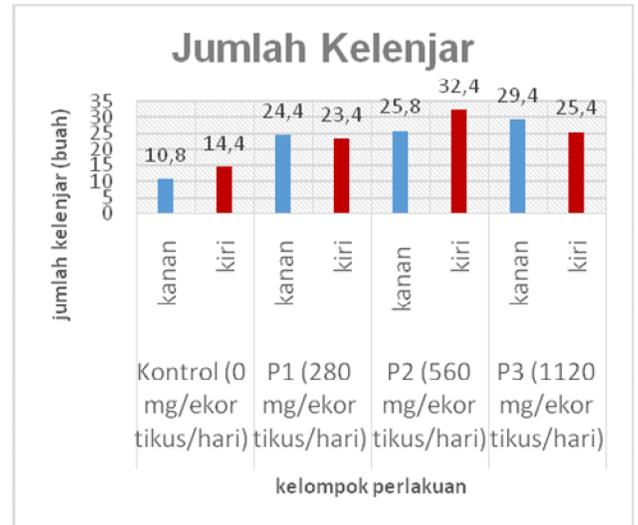
Gambar 5. Mikrofotograf sayatan melintang uterus tikus putih betina sesudah pemberian ekstrak kacang panjang. Kelompok P3 : a. lumen b. kelenjar endometrium c. endometrium (HE, 100X).

Ketebalan lapisan pada endometrium tidak sama disetiap sisinya dikarenakan sisi dari endometrium tidak rata tetapi berlekuk-lekuk yang disebabkan oleh adanya proliferasi dan sekresi dari kelenjar endometrium akibat pengaruh hormon.

B. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Panjang Terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium

Data hasil penelitian mengenai jumlah kelenjar endometrium diamati di Laboratorium Mikroskopi FMIPA UNY, dengan cara mengamati preparat uterus menggunakan mikroskop, kemudian menghitung jumlah keseluruhan kelenjar endometrium yang terdapat di lapisan endometrium tersebut. Pengamatan ini dilakukan baik terhadap jumlah kelenjar endometrium kanan maupun kiri.

Data hasil penelitian tentang jumlah kelenjar endometrium tikus putih (*Rattus norvegicus*, L.) dapat dilihat pada grafik berikut:



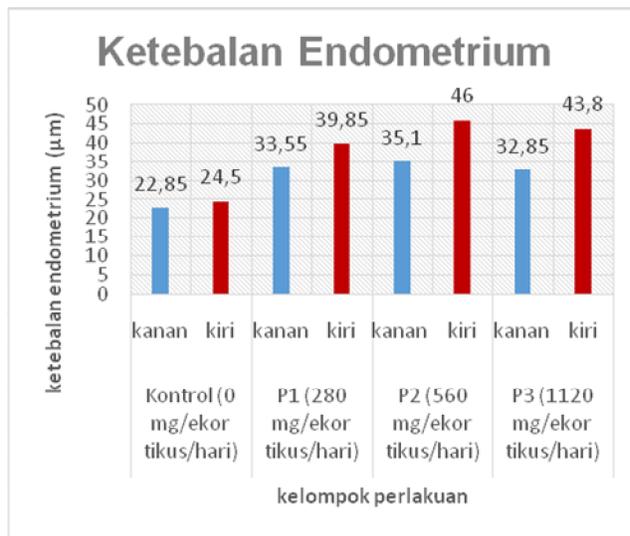
Gambar 6 .Grafik jumlah kelenjar endometrium uterus tikus putih betina sesudah pemberian ekstrak kacang panjang.

Hasil uji non-parametrik *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa nilai signifikansi jumlah kelenjar endometrium pada uterus kanan adalah sebesar 0.01. Sedangkan nilai signifikansi jumlah kelenjar endometrium pada uterus kiri adalah 0.014. Nilai signifikansi lebih kecil dari taraf signifikansi 0.05 ($P < 0.05$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat pengaruh yang nyata perlakuan pemberian ekstrak kacang panjang dalam meningkatkan jumlah kelenjar endometrium pada uterus kanan maupun kiri tikus putih betina.

C. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Panjang Terhadap Ketebalan Lapisan Endometrium

Pengukuran ketebalan lapisan endometrium tikus putih betina menggunakan bantuan mikrometer okuler yang di pasang pada mikroskop. Ketebalan lapisan endometrium diukur mulai lapisan yang berbatasan langsung dengan lumen uterus sampai batas antara lapisan endometrium dengan lapisan miometrium.

Data hasil penelitian tentang ketebalan lapisan endometrium tikus putih (*Rattus norvegicus*, L.) dapat dilihat pada grafik berikut:



Gambar 7. Grafik ketebalan lapisan endometrium uterus tikus putih betina sesudah pemberian ekstrak kacang panjang.

Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa nilai signifikansi yang diperoleh dari ketebalan lapisan endometrium kanan sebesar 0.001 dan endometrium sebelah kiri sebesar 0.000 lebih kecil dari taraf signifikansi 0.05 ($P < 0.05$). Sehingga, menunjukkan terdapatnya pengaruh yang sangat nyata dari pemberian ekstrak kacang panjang terhadap ketebalan endometrium yang dibuktikan dengan meningkatnya ketebalan lapisan endometrium. Data yang diperoleh dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menunjukkan terdapatnya perbedaan yang nyata, sehingga perlu dilakukan uji lanjut DMRT yang berguna untuk membedakan rata-rata antar kelompok perlakuan.

Hasil uji DMRT menunjukkan adanya perbedaan rata-rata antara kelompok kontrol

dengan kelompok perlakuan. Sedangkan antar kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) tidak terdapat perbedaan.

Pengaruh yang nyata terhadap jumlah kelenjar endometrium dan perbedaan hasil rata-rata pada ketebalan endometrium disebabkan karena adanya kandungan fitoestrogen jenis isoflavon pada ekstrak kacang panjang. Menurut Hernawati (2014) senyawa isoflavon merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak disintesa oleh tanaman. Aktivitas estrogenik tersebut terkait dengan struktur isoflavon yang dapat ditransformasikan menjadi equol, dimana equol mempunyai struktur fenolik yang mirip dengan hormon estrogen. Selain itu isoflavon mempunyai gugus OH pada struktur kimia penyusunnya seperti yang terdapat pada hormon estradiol.

Pada hewan betina, gonadotrophin releasing hormon (GnRH) disekresikan dari hipotalamus merangsang pelepasan lutenising hormon (LH) and follicle stimulating hormon (FSH) dari pituitari anterior. FSH dan LH merupakan gonadotropin hormon. FSH merangsang perkembangan folikel-folikel, salah satunya diantaranya berkembang cepat menjadi folikel de Graff (GF). Folikel mensekresikan hormon estrogen tepatnya pada sel granulosa dan sel theca interna. Di dalam folikel terdapat reseptor untuk FSH dan reseptor estrogen. Estrogen yang dihasilkan kemudian merangsang perkembangan sel folikel lainnya. Struktur isoflavon pada kacang panjang mirip dengan estrogen endogen sehingga isoflavon mampu berikatan dengan reseptor estrogen yang berada di folikel sehingga dapat menghasilkan lebih

banyak hormon estrogen mempengaruhi jumlah kelenjar dan ketebalan lapisan endometrium.

Hernawati (2014) menyatakan dalam melakukan kerjanya, estrogen membutuhkan reseptor estrogen (ERs) yang dapat “on/off” di bawah kendali gen pada kromosom yang disebut α -ER. Kerja dari hormon estrogen dimediasi oleh dua reseptor inti yang berbeda, yaitu reseptor estrogen-alfa (ER α) dan reseptor estrogen-beta (ER- β). Jenis fitoestrogen isoflavon memiliki afinitas yang bermakna terhadap ER- β dibandingkan ER- α . Isoflavon dapat berikatan dengan α -ER. Walaupun ikatannya lemah, tetapi dengan β -ER mempunyai ikatan sama dengan estrogen. Selain itu, fitoestrogen mempunyai berat molekul ringan dan struktur yang stabil, sehingga dapat dengan mudah menembus membran sel.

Sedangkan menurut Eddy (2005:6), khasiat estrogenik terjadi karena fitoestrogen juga memiliki 2 gugus -OH/Hidroksil yang berjarak 11,0-11,5 AO pada intinya, sama persis dengan inti estrogensendiri.

Dalam sitoplasma sel sasaran, hormon berikatan dengan reseptor khusus sehingga menghasilkan kompleks hormon- reseptor yang aktif. Kompleks tersebut memiliki daya gabung (afinitas) yang sangat tinggi terhadap DNA sehingga setelah masuk ke inti akan segera berkombinasi dengan DNA. Hal inilah yang mengawali transkripsi DNA. Tempat pembentukan ikatan kompleks hormon- reseptor pada DNA tidak diketahui dengan pasti tetapi diduga pada bagian DNA yang disebut dengan daerah promotor. Pengikatan kompleks hormon- reseptor pada daerah promotor akan merangsang

gen tertentu untuk aktif (*on*) atau pasif (*off*) (Wiwi Isnaeni, 2006:123-124).

Respon biologis akibat aktifnya gen tertentu dapat mempengaruhi proses pertumbuhan atau pembelahan sel dan aktivitas pembentukan mikrotubulus yakni mitosis. Estrogen menyebabkan meningkatnya vaskularisasi dan aktivitas mitosis uterus (Nalbandov, 1990:149). Estrogen dan progesteron juga saling bekerja sama untuk mempengaruhi pertumbuhan sistem globuler dan alveolar kelenjar uterus (Sugiyanto, 1996:33).

Kandungan fitoestrogen pada ekstrak kacang panjang yang telah diberikan pada tikus putih dengan dosis 280 mg/ekor tikus/hari dan 560 mg/ekor tikus/hari dapat memberikan efek estrogenik atau agonis terhadap estrogen endogen, sehingga dapat menambah jumlah kelenjar dan ketebalan endometrium uterus tikus putih yang dibuktikan dengan kenaikan rata-rata jumlah kelenjar dan ketebalan endometrium. Fitoestrogen mampu menjadi pendukung jika keberadaan estrogen endogen tubuh sedikit atau berkurang melalui ikatan dengan reseptor estrogen yang masih kosong. Dalam keadaan defisiensi estrogen, fitoestrogen dominan dan mengikat reseptor estrogen yang kosong, sehingga terjadi kerjasama dengan baik antara fitoestrogen dengan reseptor endogen dalam meningkatkan respon seluler. Hal ini disebut dengan efek agonis. Sedangkan, jika dosis yang diberikan lebih dari 560 mg/ekor tikus/hari yakni 1120 mg/ekor tikus/hari fitoestrogen tersebut akan memberikan efek antagonis dengan reaksi estrogenik atau antiestrogenik yang dibuktikan

dengan menurunnya rata-rata jumlah kelenjar dan ketebalan endometrium.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kacang panjang (*Vigna sinensis*, L.) sampai dengan dosis 1120 mg/ekor tikus/hari berpengaruh terhadap jumlah kelenjar endometrium dan ketebalan lapisan endometrium tikus putih betina (*Rattus norvegicus*, L).

Saran

Pada saat pengambilan organ uterus yang digunakan untuk pembuatan preparat sebaiknya berasal dari posisi organ uterus yang sejajar pada uterus sebelah kanan dan sebelah kiri agar pada saat perhitungan jumlah kelenjar dan ketebalan endometrium tidak menemui kesulitan akibat perbedaan ukuran antara uterus kanan dan kiri.

DAFTAR PUSTAKA

- Achadiat C.M.(2003). *Fitoestrogen untuk Wanita Menopause*. Diakses dari <http://situs.kesrepro.info/aging/jul/2003/ag01.html>. pada tanggal 09 Oktober 2015, jam 19.21 WIB.
- Eddy Suparman. (2005). *Fitoestrogen/HRT : Pro dan Kontra*. Manado : Universitas Sam Ratulangi.
- Handri dan Rafira. (2003). *Mempercantik Diri dengan Buah dan Sayur*. *Pikiran Rakyat Cyber Media*, 22 Juni 2003.Hlm.4.
- Hernawati Hidayat. (2014). *Perbaikan Kinerja Reproduksi Akibat Pemberian Isoflavon dari Tanaman Kedelai*. Bandung: FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia.
- Martdenti Rahma P. (2015). *Pengaruh Ekstrak Biji Mete (*Anacardium occidentale*, L.) Terhadap Jumlah Kelenjar dan Ketebalan Lapisan Endometrium Tikus Putih Betina (*Rattus norvegicus*, L.)*. Skripsi. Universitas Negeri Yogyakarta.

- Meiyanto, E., Handayani, S., Jenie, R.I.(2008). *Ekstrak etanolik kacang panjang (*Vigna sinensis* (L) Savi ex Hassk) meningkatkan proliferasi sel epitel payudara*. *Majalah Farmasi Indonesia*, 19 (4). hlm. 191-197.
- Melda Silvia Sari S. (2012). *Uji Aktivitas Antiosteoporosis Ekstrak Etanol 70% Buah Kacang Panjang (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Berdasarkan Penurunan Jumlah Osteoklas Pada Growth Plate Tulang Tikus yang Diovariectomi*. Skripsi. Universitas Indonesia.
- Nalbandov, A.V. (1990). *Fisiologi Reproduksi Pada mamalia dan Unggas*. Penerjemah : Keman, S.Jakarta: UI Press.
- Sugiyanto. (1996). *Perkembangan Hewan*. Jakarta : Kemendikbud.
- Wiwi Isnaeni. (2006). *Fisiologi Hewan*. Yogyakarta : Kanisius.
- Wong, Y.S., and Chang, Q. (2004). *Identification Of Flavonoids In Hakmeitau Beans (*Vigna Sinensis*) By High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Mass Spectrometry (LC-ESI/MS)*, *J. Agric. Food Chem.*, 52 (22), 6694–6699.