

POTENSI ESTROGENIK KOMBINASI EKSTRAK ETANOL 70% HERBA KEMANGI (*Ocimum americanum*) DAN BUAH ADAS (*Foeniculum vulgare*) PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) BETINA PRE-MENOPAUSE

E. Mulyati Effendi¹, Hera Maheshwari² dan Mar'atul Husna³

^{1,3}Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan, Bogor

²Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

E-mail : mulyaticandra@gmail.com

ABSTRACT

At the end of their fertile phase, female under go menopause state where ovaries cease to produce egg cells permanently, causing follicle to stop producing estrogen. The degradation of estrogen concentration in blood has significant undersirable influences on the structure and function of other organs. Some plants believed to have potential estrogenic effect based on several research are herb basil (*Ocimum americanum* L.) and fennel fruit (*Foeniculum vulgare* Mill.). This research aimed to find out the estrogenic potency and synergic or antagonistic effect of 70% ethanol extract of herb basil and fennel fruit on pre-menopause female rats. Twenty pre-menopause female rats are divided into 5 groups and tested with whitening effect method. Group I as positive control is given peroral ethinyl estradiol with $9 \times 10^{-3} \text{g}/200 \text{g}$ BB, group II as negative control is given peroral CMC-Na 0,5%, group III is given peroral 70% ethanol extract of basil herb 0,35g/200g BB and fennel fruit 0,0725g/200g BB, group IV is given peroral 70% ethanol extract of herb basil 0,35g/200g BB and fennel fruit 0,145g/200g BB and group V is given peroral 70% ethanol extract of herb basil 0,7g/200g BB and fennel fruit 0,0725g/200g BB. The result shows that administration of 70% ethanol extract of herb basil 0,7g/200g BB and fennel 0,0725g/200g BB gave the most significant effect as compared negative control and better than positive control in the improvement of estrous cycle length, the vascularisation of ovarium and uterus, and the increase in ovarium and uterus weight in female rats.

Key words : Estrogenic potential, Herb basil, Fennel fruit, Pre-menopause

PENDAHULUAN

Saat akhir masa reproduksi, wanita mengalami menopause dimana cadangan sel telur dalam ovarium sudah tidak ada, akibatnya sintesis hormon estrogen oleh folikel juga tidak berlangsung. Penurunan kadar estrogen dalam darah akan berpengaruh pada struktur dan fungsi organ-organ tubuh dan dapat mengakibatkan *osteoporosis* (kerapuhan tulang), *takikardia*, sakit punggung dan lain-lain (Sutedjo, 2008). *Osteoporosis* pada manusia *postmenopausal* disebabkan oleh kepadatan tulang yang menurun akibat menurunnya produksi estrogen serta terjadi penyusutan tulang sekitar 10-20% (Tjay dan Rahardja, 2007).

Menyadari pentingnya estrogen bagi kesehatan dan untuk mengurangi efek samping penggunaan estrogen sintesis seperti *etinil estradiol*, maka dewasa ini pengobatan dengan *Hormone Replacement Therapy* (HRT) beralih pada penggunaan obat-obatan berasal dari bahan alam. Beberapa hasil penelitian tanaman yang diduga memiliki khasiat estrogenik diantaranya kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan adas (*Foeniculum vulgare* Mill.), namun masih diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh kombinasi kedua tanaman tersebut.

Adas memiliki kandungan aktif dianethol dan stigmasterol yang dapat merangsang hormon estrogen (Winarto,

Potensi Estrogenik Kombinasi Ekstrak Etanol 70%(E. Mulyati, dkk.)

2007). Hasil penelitian terdahulu menyimpulkan bahwa ekstrak etanol serta ekstrak metanol buah adas memiliki khasiat estrogenik karena terbukti meningkatkan vaskularisasi, bobot ovarium, dan uterus tikus putih usia produktif. Dilaporkan juga bahwa pemberian ekstrak etanol buah adas tersebut pada berbagai dosis, menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap peningkatan kadar estrogen darah, terutama pada dosis 3,88g/200g BB (Carolina, 2007).

Kemangi memiliki kandungan aktif anetol, boron dan stigmasterol yang dapat merangsang sekresi estrogen (Winarto, 2007). Hasil yang diperoleh dari penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa aktifitas ekstrak etanol 70% herba kemangi dosis 0,8g/200g BB dapat meningkatkan aktifitas estrogenik tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina pre-menopause dan setara dengan kontrol positif *etinil estradiol* 9×10^{-3} mg/200g BB (Effendi dkk., 2009). Aktifitas estrogenik herba kemangi lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol 70% buah adas yang memiliki aktifitas estrogenik pada dosis 1,94g/200g BB (Carolina, 2007).

Yinghong *et al.*, (2007) menyatakan bahwa herbal yang dikombinasi terbukti lebih efektif karena kombinasi tersebut memiliki efek keseimbangan yang lebih dalam tubuh, oleh karena itu, penelitian mengenai potensi estrogenik kombinasi herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan buah adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) masih perlu dilakukan untuk mengetahui efek sinergis atau antagonis dari kombinasi tersebut serta mengetahui dosis paling tepat yang berpotensi estrogenik dari kombinasi kedua tanaman tersebut.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Herba Kemangi dan Buah Adas

Sebanyak 0,5 kg serbuk simplisia yang telah diayak, diekstrak dengan menggu-

nakan metode maserasi, dengan 5 L etanol 70% (1:10), didiamkan dalam tabung selama 2 hari dan dilakukan pengadukan setiap 6 jam kemudian disaring dan ampasnya dimaserasi kembali sebanyak 2 kali dengan perlakuan yang sama. Maserat yang diperoleh divakum untuk memperoleh ekstrak kering kemudian dilakukan uji fitokimia (Purnomo dkk., 2013) yang dilanjutkan dengan uji estrogenik. Begitupun dengan buah adas. Rendemen ekstrak etanol dihitung dengan membandingkan berat awal simplisia dan berat akhir ekstrak yang dihasilkan. Rendemen merupakan parameter standar mutu ekstrak serta penentuan efisiensi ekstraksi.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yg diperoleh}}{\text{bobot awal simplisia}} \times 100\%$$

Analisis Karakteristik Simplisia dan ekstrak Penetapan Kadar Air dan Kadar Abu

Penetapan kadar air dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Kadar air simplisia tidak boleh lebih dari 10% (DepKes RI, 1995) dan kadar air ekstrak kental tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2008). Kadar abu total simplisia tidak lebih dari 13,1% (DepKes RI, 2008).

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{\text{Bobot abu yg diperoleh}}{\text{Bobot awal simplisia}} \times 100\%$$

Uji Fitokimia

a. Senyawa Alkaloid

Sebanyak 0,5 g sampel dilarutkan secara terpisah dengan 10 ml alkohol, dididihkan, dan disaring. Dalam 5 ml filtrat ditambahkan 2 ml ammonia encer dan 5 ml kloroform lalu digoyangkan perlahan untuk mengekstraksi basa alkaloid. Diambil lapisan kloroform, diekstraksi dengan 10 ml asam asetat. Kemudian dibagi menjadi 3 bagian:

1. Tes Dragendroff (Protasium Bismuth

Potensi Estrogenik Kombinasi Ekstrak Etanol 70%(E. Mulyati, dkk.)

Nitrat): Beberapa tetes larutan dragendroff ditambahkan ke dalam larutan kloroform. Endapan merah bata/coklat kemerahan mengindikasikan adanya alkaloid.

2. Tes Mayer (Potasium Merkuri Iod): beberapa tetes reagen mayer ditambahkan ke dalam larutan kloroform. Endapan putih krem menandakan adanya alkaloid.
3. Tes Wagner (Iodine dalam Potasium Iodide): beberapa tetes larutan wagner ditambahkan ke dalam larutan kloroform. Endapan berwarna coklat menandakan adanya alkaloid (Rajendra *et al.*, 2011).

b. Senyawa Saponin

Uji busa: Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 ml air suling. Kemudian tabung dikocok dengan kuat, lalu diamati buih yang dihasilkan. Buih yang dihasilkan ditambahkan 3 tetes minyak zaitun dan dikocok dengan kuat setelah itu amati pembentukan emulsi (Rajendra *et al.*, 2011).

c. Senyawa Flavonoid

Metode untuk menguji flavonoid (Rajendra *et al.*, 2011):

1. Ditambahkan beberapa tetes FeCl₃ netral 1% kedalam sampel, hasil positif flavonoid ditandai dengan warna hijau kehitaman.
2. Ditambahkan beberapa tetes timbal asetat kedalam sampel, hasil positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya endapan kuning.
3. Beberapa bagian ekstrak dilarutkan dalam metanol, kemudian tambahkan sepotong kecil pita magnesium, lalu tambahkan 1 ml HCl pekat melalui dinding tabung. Warna magenta mengindikasikan adanya flavonoid.

d. Senyawa Steroid-Triterpenoid

Sebanyak 25 mg sampel dilarutkan

dengan kloroform, disaring dan filtratnya dilakukan pengetesan untuk steroid dan triterpenoid.

1. Tes Salkowski: Beberapa tetes asam sulfat ditambahkan ke larutan kloroform dan diamati. Warna merah di lapisan bagian bawah mengindikasikan adanya steroid dan warna kuning keemasan mengindikasikan adanya triterpenoid.
2. Tes Liberman Buchard: Beberapa tetes asetat anhidrat ditambahkan kedalam larutan kloroform lalu digoyangkan agar teraduk sempurna, 1 ml asam sulfat dimasukkan dengan hati-hati melalui sisi tabung. Warna coklat kemerahan mengindikasikan adanya steroid dan cincin kemerahan mengindikasikan adanya triterpenoid (Rajendra *et al.*, 2011).

e. Senyawa Tanin

1. Uji dengan FeCl₃: Sebanyak 0,5 g sampel dididihkan dengan 10 ml air lalu saring, kedalam filtrat ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl₃ 0,1%. Warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman mengindikasikan adanya tanin.
2. Uji dengan Gelatin: Beberapa ml larutan gelatin 1% di dalam sodium klorida 10% dimasukkan ke dalam sampel dan diamati. Endapan putih mengindikasikan adanya tannin (Rajendra *et al.*, 2011).

Tahap Pra-Penelitian (Adaptasi dan Whitten Effect)

Pada masa adaptasi, tikus yang digunakan untuk penelitian memiliki berat badan 200-250 g, semua tikus yang digunakan untuk penelitian diadaptasikan selama 1 minggu, selanjutnya untuk menyeragamkan birahi dilakukan metode *Whitten Effect*. Metode ini dilakukan dengan cara kandang tikus jantan diletakkan di atas kandang tikus betina. *Whitten effect* berfungsi untuk sinkronisasi birahi pada tikus betina dengan mencium

Potensi Estrogenik Kombinasi Ekstrak Etanol 70%(E. Mulyati, dkk.)

bau feromon yang keluar bersama urin jantan tikus jantan. Ketika tikus betina tidak mencium bau feromon tikus jantan, maka tikus mengalami fase anestrus, sedangkan pada saat tikus betina mencium bau feromon yang ikut keluar bersama urin tikus jantan, maka hari ke 3 berikutnya tikus betina mengalami masa estrus, ciri-ciri hewan estrus dapat dilihat dari keadaan vulva yang bengkak, berwarna merah dan basah (Hafez, 1980).

Pemeriksaan Preparat Ulas Vagina

Pemeriksaan preparat ulas vagina untuk menentukan fase siklus reproduksi dilakukan menggunakan mikroskop dengan pembesaran okuler 10x dan objektif 40x. Penentuan fase siklus reproduksi (proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus) dilakukan dengan mengamati ciri khas yang terdapat pada siklus reproduksi.

Penentuan Aktifitas Estrogenik

Untuk penentuan aktifitas estrogenik dilakukan pengelompokan tikus percobaan menjadi 5 kelompok secara acak, masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Masing-masing kelompok mendapatkan perlakuan :

1. Kelompok I: kontrol positif, diberi peroral etinil estradiol dengan dosis $9 \times 10^{-3} \text{g}/200 \text{g}$ BB dalam CMC-Na 0,5 % sebanyak 3 ml (Effendi dkk., 2009)
2. Kelompok II: kontrol negatif diberi peroral CMC-Na 0,5% sebanyak 3 ml.
3. Kelompok III: diberi peroral kombinasi ekstrak etanol 70% herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas dengan dosis 0,0725g/200g BB.
4. Kelompok IV: diberi peroral kombinasi ekstrak etanol 70% herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas dengan dosis 0,145g/200g BB tikus.
5. Kelompok V: diberi peroral kombinasi ekstrak etanol 70% herba kemangi 0,7g/200g BB dan buah adas dengan dosis 0,0725g/200g BB tikus.

Pemberian ekstrak herba kemangi

Potensi Estrogenik Kombinasi Ekstrak Etanol 70%(E. Mulyati, dkk.)

dan buah adas dilakukan setiap hari selama 14 hari berturut-turut. Pemeriksaan fase estrus dilakukan setiap hari, dua kali sehari, pagi 07.00 WIB dan malam pada pukul 19.00 WIB selama masa perlakuan. Pada hari ke-15 dilakukan dekapitasi hewan-hewan coba tersebut untuk mengamati vaskularisasi uterus dan mengoleksi ovarium dan uterus serta menimbang bobot keduanya.

Parameter dan Cara Pengamatan

A. Pengukuran Lama Fase Estrus

Pengukuran lama fase estrus dilakukan dengan metode preparat ulas vagina (*Vagina Smear*) dan tanda-tanda estrus (Hafez, 1980). Pembuatan preparat ulas vagina dilakukan setiap hari, dua kali sehari, pagi dan sore hari selama perlakuan, sekaligus melihat tanda-tanda estrus meliputi keadaan vulva dan vagina.

B. Vaskularisasi Ovarium dan Uterus Tikus

Pengamatan vaskularisasi ovarium dan uterus pada tikus betina dilakukan dengan cara mematikan tikus dengan eter pada tikus yang mengalami masa estrus, lalu dibedah untuk dikeluarkan ovarium dan uterusnya, setelah itu melihat warna mukosa pada ovarium dan uterus tikus. Pengamatan vaskularisasi dinyatakan dengan scoring, sesuai dengan modifikasi metode Rugh (1968), dimana :

Skor 1 Sedikit Merah

Skor 2 Merah

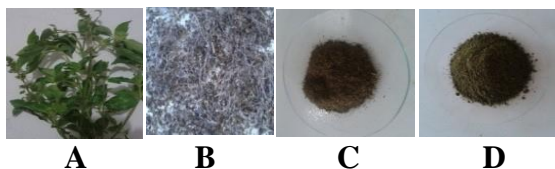
Skor 3 Sangat Merah

C. Penimbangan Bobot Ovarium dan Uterus Tikus

Setelah dilakukan penelitian aktifitas estrogenik, tikus dimatikan dengan menggunakan eter lalu dibedah dan dikeluarkan ovarium serta uterusnya, kemudian dilakukan penimbangan bobot ovarium dan uterus. Untuk menimbang dilakukan dengan menggunakan timbangan analitik.

HASIL DAN PEMBAHASAN
Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Herba Kemangi dan Buah Adas

Hasil ekstraksi serbuk herba kemangi dengan pelarut etanol 70% menghasilkan 5 L ekstrak encer, kemudian ditambahkan maltodextrin lalu dikeringkan menggunakan *vaccum rotavapor* dan menghasilkan ekstrak kering + malto dekstrin sebanyak 413g. Penambahan maltodekstrin sebelum pengeringan sebanyak 360 g sehingga berat murni ekstrak adalah 53 g. Rendemen herba kemangi yang didapatkan yaitu 10,6 %. Rendemen merupakan parameter standar mutu ekstrak serta penentuan efisiensi ekstraksi. Hasil herba kemangi, serbuk dan ekstrak kering herba kemangi dapat dilihat pada Gambar 1.

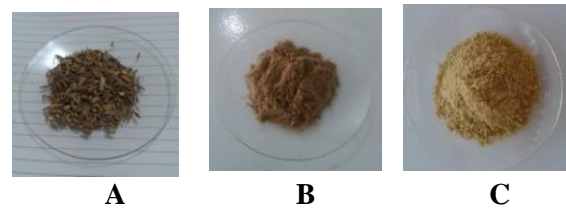


Gambar 1. A. Simplisia basah herba kemangi; B. Simplisia kering herba kemangi; C. Serbuk kering herba kemangi; D. Ekstrak kering herba kemangi

Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.)

Sebanyak 0,5 kg serbuk buah adas diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10 menghasilkan 5 L ekstrak encer, kemudian ditambahkan maltodextrin lalu dikeringkan menggunakan *vaccum rotavapor* dan menghasilkan ekstrak kering + maltodekstrin sebanyak 45,7g. Penambahan maltodekstrin sebelum pengeringan sebanyak 400g sehingga berat murni ekstrak adalah 52,7g. Rendemen buah adas yang didapatkan yaitu 10,54%. Rendemen merupakan parameter standar mutu ekstrak

serta penentuan efisiensi ekstraksi. Hasil buah adas, serbuk dan ekstrak kering buah adas dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. A. Simplisia kering buah adas; B. Serbuk kering buah adas; C. Ekstrak kering buah adas

Hasil Karakteristik Simplisia dan Ekstrak Hasil Kadar Air dan Kadar Abu

Hasil penetapan kadar air disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Kadar Air Serbuk Simplisia dan Ekstrak

Jenis Bahan		Ulangan	Kadar Air (%)	Rata-Rata (%)
Herba Kemangi	Simplisia	1	4,60	4,71
		2	4,82	
	Ekstrak	1	3,54	3,43
		2	3,32	
Buah Adas	Simplisia	1	4,01	4,21
		2	4,41	
	Ekstrak	1	3,11	3,23
		2	3,35	

Berdasarkan hasil yang diperoleh, kadar air serbuk simplisia dan ekstrak herba kemangi dan buah adas memenuhi persyaratan (DepKes RI, 1989) yaitu kadar air tidak boleh lebih dari 10 %. Semakin kecil kandungan air dalam suatu simplisia, maka akan sangat berguna untuk memperpanjang daya tahan serbuk simplisia selama penyimpanan. Kadar air yang terlalu kecil dapat merusak senyawa aktif yang terkandung dalam suatu simplisia.

Hasil penentuan kadar abu pada simplisia herba kemangi dan buah adas dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Kadar Abu Serbuk Simplisia dan Ekstrak.

Jenis Bahan		Ulangan	Kadar Abu	Rata-Rata (%)
Herba Kemangi	Simplisia	1	12,3	12,21
		2	12,21	
	Ekstrak	1	4,53	4,575
		2	4,62	
Buah Adas	Simplisia	1	10,07	9,995
		2	9,92	
	Ekstrak	1	3,41	3,31
		2	3,21	

Hasil pemeriksaan kadar abu memenuhi syarat sesuai Departemen Kesehatan (2008) yang menyatakan bahwa kadar abu total simplisia tidak lebih dari 13,1%. Pengotor mineral yang melebihi batas akan mempengaruhi kualitas senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia.

Hasil Uji Fitokimia

Keseluruhan uji fitokimia menunjukkan hasil positif (Tabel 3.)

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia pada Simplisia dan Ekstrak

Tanaman	Golongan Senyawa	Simplisia	Ekstrak
Herba Kemangi	Alkaloid	+	+
	Saponin	+	+
	Tannin	+	+
	Flavonoid	+	+
	Steroid	-	-
Buah Adas	Triterpenoid	+	+
	Alkaloid	+	+
	Saponin	+	+
	Tannin	+	+
	Flavonoid	+	+
Buah Adas	Steroid	+	+
	Triterpenoid	-	-

Keterangan : (+) : terdapat
 (-) : tidak terdapat

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan Buah Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) Terhadap Lama Fase Estrus

Siklus estrus terdiri dari proestrus (12 jam), estrus (12 jam), metestrus (21 jam) dan diestrus (57 jam) yang keseluruhan berjumlah 4-5 hari (Syamsudin dan Darmono, 2011; Hafedz, 1980).

Hasil pengujian ekstrak etanol herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan buah adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) terhadap lama fase estrus dilakukan setiap 12 jam sekali dengan mengamati sel-sel yang ditemukan dalam apusan vagina secara mikroskopik, yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Lama Fase Estrus

Jumlah Ulangan	Lama Fase Estrus (Jam)				
	Perlakuan				
	P1	P2	P3	P4	P5
1	144	100	160	174	186
2	146	96	163	175	178
3	150	104	168	171	180
4	148	110	165	174	-
Total	588	410	656	694	544
Rata-	147 ^b	102,5	164 ^c	173,5 ^d	181,3 ^e

Ket : Huruf superscript yang berbeda, menyatakan pengaruh yang sangat berbeda nyata pada setiap perlakuan (P<0,01).

P1 = kontrol positif (ethinyl estradiol 9x10⁻³ mg/200g BB)

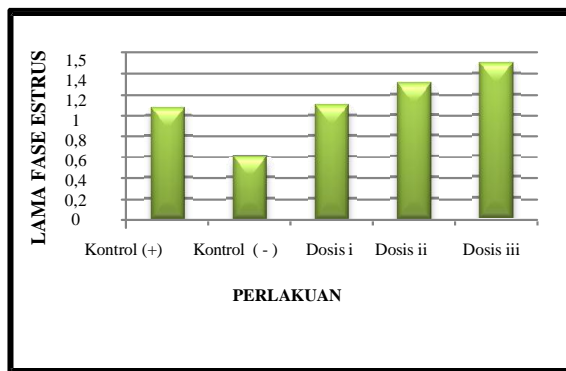
P2 = kontrol negatif (CMC-Na 0,5%)

P3= kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,0725g /200g BB.

P4= kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,145g/200g BB

P5= kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,7g/200g

BB dan buah adas 0,0725g /200g BB.



Gambar 3. Diagram Lama Fase Estrus

Hasil pengujian pada Tabel 4 berdasarkan rata-rata lama fase estrus menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan buah adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) pada tikus putih cenderung memperpanjang lama fase estrus. Diagram perbedaan pengaruh ini dapat dilihat pada Gambar 3.

Hasil uji statistik diketahui bahwa CMC-Na sebagai kontrol negatif (P2), etinil estradiol sebagai kontrol positif (P1), kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,0725g /200g BB sebagai dosis 1 (P3), kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,145g/200g BB sebagai dosis 2 (P4) dan kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,7g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB sebagai dosis 3 (P5) memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata terhadap lama fase estrus. Hal ini dibuktikan dengan nilai sig = 0.000 (P<0,01). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Duncan.

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa semua perlakuan memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata. Pemberian kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB sebagai dosis 1 (P3) dan kombinasi ekstrak etanol 70 % herba

kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,145g/200g BB sebagai dosis 2 (P4) dan kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,7g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB sebagai dosis 3 (P5) memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata dibandingkan kontrol negatif (P2) dan lebih baik dari kontrol positif (P1). Maka dapat diketahui bahwa pemberian dosis terendah kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB sebagai dosis 1 (P3) pun sudah memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata dibandingkan kontrol negatif (P2) dan lebih baik dari kontrol positif (P1).

Peningkatan lama fase estrus ini dipengaruhi oleh peningkatan produksi estrogen di dalam tubuh tikus. Fungsi utama estrogen adalah menimbulkan proliferasi sel dan pertumbuhan jaringan organ-organ kelamin serta jaringan lain yang berkaitan dengan reproduksi (Mutscher,1991). Estrogen pada buah adas pada fase proestrus diduga menyebabkan proliferasi sel epitel vagina dan pada fase estrus diduga menyebabkan kornifikasi sel epitel vagina (Setiawan, 2010). Begitupun pada herba kemangi. Hal ini terlihat pada peningkatan lama fase estrus pada tikus yang diberikan kombinasi ekstrak herba kemangi dan buah adas.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan Buah Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) Terhadap Vaskularisasi Ovarium dan Uterus pada Fase Estrus

Pada pengujian ekstrak etanol herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan buah adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) terhadap vaskularisasi organ reproduksi (ovarium dan uterus) tikus menggunakan modifikasi metode Rugh (1968) berdasarkan scoring yang dapat dilihat dari perbedaan warna mukosa ovarium dan uterus (Gambar 4).

Potensi Estrogenik Kombinasi Ekstrak Etanol 70%(E. Mulyati, dkk.)



Gambar 4. Penampang Ovarium dan Uterus pada Fase Estrus Tikus

Tabel 5. Pengamatan Vaskularisasi pada Ovarium dan Uterus

Jumlah Ulangan	Skor Warna Ovarium dan Uterus				
	Perlakuan				
	P1	P2	P3	P4	P5
1	2	1	2	3	3
2	2	1	3	3	3
3	3	1	3	2	3
4	2	1	2	3	-
Total	9	4	10	11	9
Rata-rata	2,25 ^b	1 ^a	2,5 ^{bc}	2,75 ^{bc}	3 ^c

* Skor 1 □ □ Sedikit Merah

Skor 2 □ □ Merah

Skor 3 □ □ Sangat Merah

*superscript yang berbeda, menyatakan pengaruh yang sangat berbeda nyata pada setiap perlakuan (P<0,01).

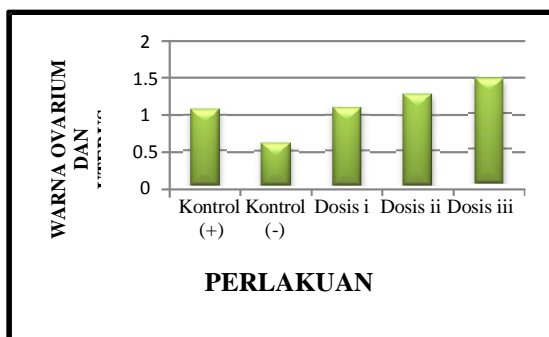
*P1 = kontrol positif (ethinyl estradiol 9×10^{-3} mg/200g BB)

P2 = kontrol negatif (CMC-Na 0,5%)

P3= kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB

P4= kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,145g/200g BB

P5= kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,7g/200g BB dan buah adas 0,0725g /200g BB



Gambar 5. Diagram Vaskularisasi Ovarium dan Uterus

Pemberian ekstrak etanol herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan buah adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) mempengaruhi warna pada mukosa uterus dan ovarium tikus. Data skor warna vaskularisasi ovarium dan uterus disajikan pada Tabel 5. terlihat bahwa pemberian ekstrak pada kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,8g/200g BB dan buah adas 0,145g/200g BB sebagai dosis 3 (P5) memberikan skor yang paling tinggi. Perbedaan pengaruh ini juga sangat terlihat pada grafik yang disajikan pada Gambar 5.

Hasil uji statistik diketahui bahwa CMC-Na sebagai kontrol negatif (P2), ethinyl estradiol sebagai kontrol positif (P1), kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB sebagai dosis 1 (P3), kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,145g/200g BB sebagai dosis 2 (P4) dan kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,7g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB sebagai dosis 3 (P5) memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata terhadap vaskularisasi ovarium dan uterus hal ini dibuktikan dengan nilai sig = 0.000 (P<0,01). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Duncan.

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB sebagai dosis 1 (P3) dan kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,145g/200g BB sebagai dosis 2 (P4) memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata dibandingkan kontrol negatif (P2) serta memberikan pengaruh yang relatif sama dengan kontrol positif. Kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,7g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB sebagai dosis 3 (P5) memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata dan paling baik dibandingkan semua perlakuan terhadap vaskularisasi ovarium

dan uterus pada tikus putih betina.

Hasil pengamatan secara kasat mata, pada permukaan ovarium juga terlihat tonjolan-tonjolan yang memperlihatkan adanya perkembangan folikel. Vaskularisasi organ reproduksi ini disebabkan oleh aktifitas pembuluh darah yang berada di dalamnya. Peningkatan aktifitas pembuluh darah ini disebabkan karena adanya pengaruh tidak langsung dari senyawa aktif yang diberikan kepada tikus. Senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak etanol 70% herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan buah adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) akan mempengaruhi secara tidak langsung dalam meningkatkan estrogen pada ovarium.

Pada siklus ovarium terdapat dua fase yaitu fase folikular dan fase luteal. Fase proestrus dan estrus disebut fase folikular sedangkan fase metestrus dan diestrus disebut fase luteal. Pada fase folikular kadar estrogen yang tinggi menyebabkan vaskularisasi tinggi pada uterus. Estrogen juga menyebabkan uterus mengalami pembesaran dan mengembang akibat akumulasi cairan (Turner dan Bagnara, 1976). Hal ini sesuai pernyataan Dellman (1992) yaitu pada saat estrus terjadi peningkatan tekanan darah dalam kapiler yang menyelimuti organ reproduksi, terutama pada ovarium dan uterus serta terdapat pelebaran pembuluh darah yang mengakibatkan terjadinya penambahan bobot ovarium dan uterus.

Menurut Guyton dan Hall (1997) estrogen menyebabkan pembesaran ovarium, tuba fallopi, uterus, dan vagina. Perbesaran ini terjadi pada genitalia eksternal. Estrogen menstimulasi peningkatan pertumbuhan epitel vagina untuk berkornifikasi (mengalami penandukan). Estrogen mengubah epitel vagina yang semula epitel pipih selapis menjadi *kuboid* (bujur sangkar) bertingkat. Estrogen menyebabkan perubahan nyata pada endometrium dan kelenjarnya. Selain itu,

Potensi Estrogenik Kombinasi Ekstrak Etanol 70%(E. Mulyati, dkk.)

estrogen merangsang *hipertropi* (produksi sel baru) dan *hyperplasia* (perbesaran sel) pada endometrium dan myometrium, akibatnya ukuran uterus bertambah dua kali sampai tiga kali lipat dibandingkan sebelum pubertas dan berwarna lebih merah.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Herba Kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan Buah Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) Terhadap Bobot Ovarium dan Uterus pada Fase Estrus

Hasil pengujian ekstrak etanol herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan buah adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) terhadap peningkatan bobot ovarium dan uterus dilakukan setelah terjadinya estrus hingga estrus berikutnya,. Dengan cara menimbang ovarium dan uterus tikus setiap perlakuan.

Tabel 6. Data Penimbangan Bobot Ovarium dan Uterus Tikus pada Setiap Perlakuan

Jumlah Ulangan	Pengukuran Bobot Ovarium dan Uterus				
	Perlakuan				
	P1	P2	P3	P4	P5
1	1,3	0,5	1,2	1,4	1,4
2	0,9	0,6	1,0	1,3	1,5
3	1,1	0,7	1,1	1,3	1,6
4	1,0	0,8	1,1	1,2	-
Total	4,3	2,6	4,4	5,2	4,5
Rata-rata	1,075 ^b	0,6 ^a	1,1 ^b	1,3 ^c	1,5 ^d

Ket : superscript yang berbeda, menyatakan pengaruh yang sangat berbeda nyata pada setiap perlakuan (P<0,05).

P1 = kontrol positif (ethinyl estradiol 9x10⁻³mg/200g BB)

P2 = kontrol negatif (CMC-Na 0,5%)

P3= kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB

P4= kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,145g/200g BB

P5= kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,7g/200g BB dan buah adas 0,0725g /200g BB

Hasil pengujian pada Tabel 6 menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan buah adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) memberikan pengaruh yang sama terhadap peningkatan bobot ovarium dan uterus tikus.

Hasil uji statistik diketahui bahwa CMC-Na sebagai kontrol negatif (P2), ethinyl estradiol sebagai kontrol positif (P1), kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB sebagai dosis 1 (P3), kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,145g/200g BB sebagai dosis 2 (P4) dan kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,7g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB sebagai dosis 3 (P5) memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata terhadap bobot ovarium dan uterus hal ini dibuktikan dengan nilai sig = 0.000 (P<0,01). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Duncan.

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB sebagai dosis 1 (P3) memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata dibandingkan kontrol negatif (P2) serta memberikan pengaruh yang relatif sama dengan kontrol positif. Kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,7g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB sebagai dosis 3 (P5) memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata dan paling baik dibandingkan semua perlakuan terhadap bobot ovarium dan uterus pada tikus putih betina.

Tingginya bobot ovarium dan uterus tikus diduga karena senyawa estrogenik dalam herba kemangi dan buah adas yang mampu berikatan dengan reseptor estrogen pada ovarium. Ikatan estrogen dengan reseptor estrogen ini akan mengaktifasi sel dan menginduksi produksi dan proliferasi sel-sel ovarium

sehingga menyebabkan penambahan jumlah sel dalam ovarium yang akan meningkatkan masa ovarium. Penambahan bobot ovarium diperkirakan berasal dari penambahan sel-sel mesenkim dan sel-sel folikular ovarium disertai dengan peningkatan kadar cairan dalam ovarium, cairan ini berupa transudat dari serum dan mukopolisakarida yang disekresikan oleh sel-sel granulosa (Setiawan, 2010). Selain itu pada tikus yang sedang estrus terdapat akumulasi cairan di dalam lumen uterus yang akan meningkatkan berat basah organ (Hafedz, 1980).

Dari hasil penelitian yang dilakukan berdasarkan parameter yang telah diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB berpengaruh sangat berbeda nyata terhadap lama fase siklus estrus dibandingkan kontrol negatif dan lebih baik dibandingkan kontrol positif, dan berpengaruh sangat berbeda nyata dalam meningkatkan vaskularisasi uterus dan ovarium tikus dibandingkan kontrol negatif dan setara dengan kontrol positif serta berpengaruh sangat berbeda nyata terhadap peningkatan bobot ovarium dan uterus tikus dibandingkan kontrol negatif dan memberikan pengaruh yang relatif sama dengan kontrol positif. Sedangkan kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,7g/200g BB dan buah adas 0,145g/200g BB sebagai dosis 3 (P5) memiliki pengaruh yang sangat berbeda nyata dibandingkan semua perlakuan terhadap lama fase estrus, vaskularisasi ovarium dan uterus, serta bobot ovarium dan uterus tikus. Jadi dosis 3 merupakan dosis yang paling berpotensi untuk memperpanjang fase estrus, peningkatan vaskularisasi, serta peningkatan bobot ovarium dan uterus tikus. Dosis 3 dengan dosis kemangi lebih besar dibandingkan adas diduga paling berpotensi, hal ini diduga dikarenakan senyawa estrogenik pada kemangi lebih banyak diantaranya

Potensi Estrogenik Kombinasi Ekstrak Etanol 70%(E. Mulyati, dkk.)

terdapat anethol, boron, dan stigmasterol, dibandingkan pada adas yang hanya mengandung dianethol dan stigmasterol. Selain itu pada buah adas terdapat senyawa beta-sitosterol yang ternyata dapat menghambat pengeluaran estrogen oleh tubuh.

Estrogen pada herba kemangi dan buah adas bekerja dengan cara berikatan pada reseptor estrogen dan kompleks reseptor ligan untuk menginduksi ekspresi dari gen yang responsif terhadap estrogen sehingga terjadi peningkatan masa uterus (Setiawan, 2010). Selanjutnya Satyaning-tiyas dkk., (2014) menyebutkan bahwa flavonoid yang bersifat estrogenik akan menduduki reseptor estrogen yang berada di dalam tubuh. Lain halnya dengan steroid yang merupakan prekursor hormon testosteron yang kemudian diubah menjadi estrogen. Senyawa flavonoid tersebut akan bekerja secara kompetitif dengan estrogen sehingga akan menduduki reseptor apabila produksi estrogen di dalam tubuh menurun. Jadi, senyawa flavonoid akan menggantikan estrogen untuk berikatan dengan reseptor.

Estrogen dapat menyebabkan peningkatan aliran darah secara tidak langsung yaitu melalui terjadinya peningkatan prostaglandin yang dapat menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah pada miometrium maupun pada endometrium (Guyton dan Hall, 1997).

Dari hasil penelitian, dosis paling berpotensi estrogenik bila dikonversi untuk manusia (70 kg) yaitu kombinasi simplisia segar herba kemangi 3,46 kg dan buah adas 0,085 kg.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Perlakuan ekstrak etanol herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan buah adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) bekerja secara sinergis dalam meningkatkan aktifitas estrogenik tikus putih betina pre-menopause

2. Kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,35g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB (P3) berpengaruh sangat nyata terhadap lama fase estrus dibandingkan kontrol negative dan lebih lama dibandingkan kontrol positif.
3. Kombinasi herba kemangi 0,35g/200g BB + buah adas 0,0725g/200g BB (P3) dan herba kemangi 0,35g/200g BB + buah adas 0,145g/200g BB (P4) berpengaruh sangat nyata terhadap vaskularisasi dan bobot ovarium dan uterus tikus dibandingkan kontrol negatif dan memberikan pengaruh yang relatif sama dengan kontrol positif.
4. Kombinasi ekstrak etanol 70 % herba kemangi 0,7g/200g BB dan buah adas 0,0725g/200g BB sebagai dosis 3 (P5) memiliki pengaruh yang sangat nyata dibandingkan semua perlakuan terhadap lama fase estrus, vaskularisasi ovarium dan uterus, serta bobot ovarium dan uterus tikus.

Saran

1. Masih perlu dilakukan penelitian mengenai ekstrak etanol herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) dan buah adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) dengan dosis yang lebih rendah serta toksisitas kombinasi kedua tanaman tersebut.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktifitas folikel dengan metode histology ovarium.

DAFTAR PUSTAKA

- Carolina, E. 2007. *Uji Aktivitas Estrogenik Ekstrak Etanol Buah Adas pada Tikus Putih Betina Pre-menopause Jalur Sprague Dawley*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pakuan. Bogor: 32.
- Dellman, H.D. 1992. *Buku Teks Histology Veteliner*. Edisi ke-3.

Potensi Estrogenik Kombinasi Ekstrak Etanol 70%(E. Mulyati, dkk.)

- Terjemahan: R. Hartono.. UI Press. Jakarta: 517-520
- DepKes RI. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Edisi V. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- _____. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta
- _____. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Guyton dan Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi II. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta.
- Hafez, E.S.E. 1980. *Reproduction In Farm Animals*. 6th ed. Lea & Febiger. Philadelphia.
- Purnomo, R.H., Maheswari H, dan Effendi, E.M.2013. *Potensi Androgenik Kombinasi Ekstrak Etanol Herba Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan Buah Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) pada Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pakuan. Bogor.
- Rajendra CE., Magadum G.S., Nadaf. M.A., V. Yashoda., M. Manjula. 2011 *Phytochemical Screening Of The Rhizome Of Kaempferia galanga*. *International Journal of harmacognosy and Phyto chemical Research*; 3 (3): 61 – 63.
- Rugh, R. 1968. *The Mouse Reproduction and Development*. Burgess Publishing Company. Menneapolis. USA.
- Satyaningtiyas, A.S., Maheswari, H., Achmadi, P., Pribadi, W.A., Hapsari, S., Jondriatno, D., Bustamin, I., dan Kiradani, B. 2014. *Kinerja Reproduksi Tikus Bunting Akibat Pemberian Ekstrak Etanol Purwoceng*. *Jurnal Kedokteran Hewan*. **8** (1) : 35-37.
- Setiawan. 2010. *Aktivitas Ekstrak Methanol Buah Adas (*Foeniculum Vulgare* Mill.) Terhadap Lama Siklus Estrus Serta Bobot Uterus dan Ovarium Tikus Putih*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Institute Pertanian Bogor, Bogor.
- Sutedjo. 2008. *Mengenal Obat-Obatan Secara Mudah dan Aplikasinya dalam Perawatan*. Penerbit Amara Books. Yogyakarta
- Tjay, T.H dan Rahardja, K. 2007. *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan, dan Efek Sampingnya*. PT Elex Media komputindo. Jakarta.
- Turner, C.D. dan Bagnara J.J. 1976. *Endokrinologi Umum*. Penerjemah: Harjoso. Airlangga University Press. Surabaya.
- Winarto. 2007. *Memfaatkan Tanaman Sayur Untuk Mengatasi Aneka Penyakit*. Agremedika Pustaka. Jakarta.
- Yinghong, L., Ming, K.J., Liansai, C., and Khang, G.P. 2007. *Synergistic Effect Of Tradisional Chinese Medicine*. Nongyang Technological University Of Singapura, Singapura.