

**KAJIAN POTENSI ESTROGENIK EKSTRAK n-HEKSAN HERBA KEMANGI
(*Ocimum americanum* L.) PADA TIKUS PUTIH BETINA (*Rattus norvegicus*)**

Mulyati effendi¹ dan Anatria Kholiyah²

¹Program Studi Biologi, FMIPA Universitas Pakuan, Bogor

²Program Studi Farmasi, FMIPA Universitas Pakuan, Bogor

E-mail : mulyatichandra@gmail.com

ABSTRACT

Menopause is a condition in which menstrual cycles stalled due to gland gonadotropin no longer carry out their duties in work affecting the ovaries to produce estrogen. Will halt production of estrogen can lead to osteoporosis (bone loss), kolesterolemia and heart disease. Basil herbs contain chemicals suspected of having estrogenic activity. This study aims to determine the optimum dose estrogenic activity and n-hexane extract of herbs basil (*Ocimum americanum* L.). animal testing is used 25 female rats were divided into 5 treatment groups. The result showed that all three doses of n-hexane extract of basil herbs have estrogenic activity. The average increase in estrous cycle in groups III, IV and V was 143 hours, 144,6 hours, and 148,6 hours, while the average of scoring against ovarian and uterine vascularization in group III, IV and V are 2,2; 2 and 2,4. In weighing the ovaries and uterus weights on average in groups III, IV and V are 1,36 g, 1,72 g and 1,7 g. From the above result it can be concluded that n-hexane extracts of basil herb can cause estrogenic activity with an effective dose of 0,2 g/200g BW.

Key words: Basil (*Ocimum americanum* L.), estrogen wung, n-Heksan

PENDAHULUAN

Pada usia antara 45 tahun hingga 55 tahun umumnya wanita mengalami keadaan yang disebut menopause. Menopause adalah keadaan dimana siklus menstruasi terhenti yang diawali dengan menstruasi yang tidak teratur. Hal ini disebabkan kelenjar gonadotropin pada wanita sudah tidak menjalankan tugasnya lagi dalam mempengaruhi kerja ovarium untuk memproduksi hormon estrogen. Menopause sering menimbulkan keluhan-keluhan antara lain rasa panas, kemampuan tubuh melemas, rasa takut, perasaan depresi dan rasa pening (Mutschler, 1991).

Estrogen pada wanita akan berperan dalam pembentukan kontur tubuh, juga mampu mengurangi proses resorpsi kalsium tulang sehingga kepadatan tulang dapat dipertahankan. Estrogen juga dapat meningkatkan trigliserid dan menurunkan

kolesterol total plasma meskipun ringan. Produksi estrogen yang terhenti akan dapat mengakibatkan osteoporosis (kerapuhan tulang), kolesterolemia dan penyakit jantung.

Estrogen telah banyak digunakan sebagai salah satu alternatif dalam pengobatan. Penggunaan estrogen sintetis secara berlebihan dan terus menerus akan menimbulkan efek samping yang membahayakan bagi manusia seperti kanker endometrium (Gunawan, 2007).

Menyadari pentingnya estrogen untuk kesehatan dan untuk mengurangi efek samping penggunaan estrogen sintetis yang tidak diinginkan maka pada saat ini banyak dikembangkan produk herbal yang mempunyai khasiat sebagai fitoestrogen. Salah satu tanaman yang diduga mempunyai khasiat fitoestrogen adalah kemangi.

Kajian Potensi Estrogenik Ekstrak n-Heksan Herba Kemangi.....(Mulyati dan Anatria)

Kemangi juga dapat dimanfaatkan sebagai peluruh air susu ibu (ASI), peluruh kentut, peluruh haid, menurunkan demam juga mengurangi aroma tubuh yang kurang sedap. Kemangi dapat memperlancar peredaran darah sehingga dapat membuat kulit cantik, sehat dan halus. Minyak atsiri yang terkandung dalam kemangi berfungsi sebagai pembunuh bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* dan *Escherichia coli* (Kurniawati, 2010).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Effendi, EM. dkk (2011), dimana aktivitas estrogenik herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) ditentukan oleh kandungan steroid yang diperoleh dari hasil ekstraksi dengan etanol 70%. Dosis optimum yang dapat menimbulkan efek estrogenik yaitu pada dosis 0,8g/200gBB yang sebanding dengan kontrol positif ethinyl estradiol dosis 9×10^{-3} mg/200gBB.

Steroid adalah senyawa yang bersifat non polar, oleh karena itu pelarut yang digunakan untuk memaksimalkan penarikan steroid pada herba kemangi sebaiknya juga pelarut yang memiliki sifat non polar seperti n-heksan yang telah diuji menggunakan GC-MS dimana pada ekstrak dengan pelarut n-heksan ditemukan senyawa dengan kemiripan terhadap senyawa steroid 99% bila dibandingkan dengan pelarut etil asetat dan etanol 70%.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* varietas ke-3 (sudah pernah melahirkan) usia 8-9 bulan dengan bobot badan berkisar 200-250g sebanyak 30 ekor, 5 ekor tikus jantan, NaCl fisiologis, ethinyl estradiol (Lynoral tablet), aquadest, herba kemangi (*Ocimum americanum* L.), pewarna giemsa, CMC Na, n-heksan, eter.

Metode

Penyediaan Simplisia

Herba kemangi yang telah dicuci bersih, ditiriskan untuk membebaskan dari sisa-sisa air cucian, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di bawah sinar matahari tidak langsung. Setelah kering kemangi diserbukkan menggunakan alat (grinder) hingga menjadi serbuk kemudian diayak menggunakan mesh 20 setelah itu disimpan dalam wadah tertutup rapat.

Penetapan Kadar Air

Cawan kosong ditimbang dan ditambahkan serbuk sebanyak 2-3 g kemudian dimasukkan ke dalam oven bersuhu 100-105°C selama 2 jam. Cawan yang telah terisi tadi didinginkan di dalam eksikator, beberapa saat kemudian ditimbang. Kemudian dimasukkan kembali dalam oven selama 1 jam, lalu didinginkan kembali dalam eksikator dan ditimbang sampai mencapai berat konstan yaitu dilakukan tiga kali penimbangan (Depkes RI, 1978).

Uji Fitokimia

a. Senyawa Alkaloid

Sebanyak 100 mg ekstrak ditambah HCl 10% dan amonia encer hingga pH 8, kemudian disarikan dengan kloroform. Sari kloroform diuapkan sampai kering, sisa dilarutkan dalam HCl dan larutan tersebut dibagi dalam empat tabung. Tabung pertama digunakan sebagai pembanding, tabung ke dua ditambahkan pereaksi Mayer terbentuk endapan putih, tabung ke tiga ditambahkan pereaksi Dragendroff terbentuk endapan jingga dan tabung keempat ditambahkan Bouchardat terbentuk endapan coklat (Penentuan dilakukan duplo).

b. Senyawa Saponin

Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung lalu diencerkan dengan air, kemudian dikocok kuat selama 10 menit. Keberadaan senyawa

golongan saponin ditunjukkan oleh terbentuknya busa yang stabil dan busa tetap stabil setelah penambahan 1 tetes HCl 1% (encer). (Penentuan dilakukan duplo)

c. Senyawa Flavonoid

Sebanyak 100 mg ekstrak ditambah 100 ml air panas kemudian dididihkan selama 5 menit, disaring sehingga diperoleh filtrat yang digunakan sebagai larutan percobaan. 5 ml larutan percobaan ditambahkan serbuk magnesium dan 1 ml HCl pekat, selanjutnya ditambahkan amilalkohol, campuran tersebut dikocok dengan kuat dan dibiarkan hingga memisah. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga dalam larutan amilalkohol menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid (Penentuan dilakukan duplo).

d. Senyawa Steroid

Sebanyak 100 mg ekstrak dimasukkan ke dalam tabung lalu ditambahkan pereaksi Lieberman Bouchard. Terbentuknya warna merah atau cincin hijau menunjukkan adanya senyawa golongan steroid atau tripernoid (Penentuan dilakukan duplo).

e. Senyawa Tanin

Sebanyak 100 mg ekstrak diencerkan dengan air dan larutan tersebut ditambahkan pereaksi $FeCl_3$. Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya golongan tanin (Penentuan dilakukan duplo).

Pembuatan Ekstrak n-Heksan Herba Kemangi

Sebanyak 200g serbuk herba kemangi yang telah diayak dengan menggunakan mesh 20, diekstrak dengan menggunakan metode maserasi, dengan menggunakan 2L n-Heksan (1:10), didiamkan dalam tabung selama 3 hari. Kemudian disaring dan ampasnya dimaserasi kembali

sebanyak 2 kali dengan perlakuan yang sama. Ekstrak yang diperoleh dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 30-40°C untuk memperoleh ekstrak kental.

Persiapan Hewan Coba

Hewan percobaan yang digunakan adalah 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur *Sprague Dawley* pre-menopause dengan kondisi kesehatan yang baik dan sudah pernah dikawinkan, berat rata-rata 200-250g. Dari jumlah tersebut dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, masing-masing 5 ekor dalam tiap kandang.

Sebelum digunakan untuk penelitian, semua tikus diadaptasikan selama 1 minggu. Selanjutnya untuk menyeragamkan birahi dilakukan metode *Whitten Effect* dengan cara meletakkan kandang tikus jantan di atas kandang tikus betina.

Pengambilan Sampel Preparat Ulas Vagina (*Vagina Smear*)

Vagina Smear yang dilakukan 2 kali sehari setiap 12 jam dengan cara kapas (*cotton bud*) yang telah dibasahi dengan NaCl fisiologis diulaskan ke dalam lubang vagina tikus kemudian diusapkan di atas objek gelas dan difiksasi menggunakan metanol 10% selama 5 menit. Preparat ulas diwarnai menggunakan Giemsa selama 30 menit, kemudian dicuci dengan akuades lalu dikeringkan dan dilihat dibawah mikroskop (Hafez, 1980).

Penentuan Aktivitas Estrogenik

Untuk penentuan aktivitas estrogenik 25 ekor tikus dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus dimana K1 (kontrol positif dengan ethinyl estradiol (Lynoral tablet) 9×10^{-3} mg/200gBB), K2 (kontrol negatif CMC Na 1%/200gBB), K3 (ekstrak n-heksan herba kemangi 0,2g/200gBB),

K4 (ekstrak n-heksan herba kemangi 0,4g/200gBB), K5 (ekstrak n-heksan herba kemangi 0,8g/200gBB). Pemberian ekstrak herba kemangi pada tikus dilakukan selama 7 hari berturut-turut yang dimulai pada fase estrus tikus yang terlihat dari preparat ulas vagina tikus. Pada hari ke 8 dilakukan dekapitasi hewan coba tersebut untuk mengamati vaskularisasi uterus dan ovarium serta menimbang bobot keduanya. Dihitung waktu yang diperlukan untuk satu siklus estrus.

Rancangan Penelitian

Untuk memperoleh suatu kesimpulan pengaruh estrogenik dari ekstrak n-heksan herba kemangi pada tikus putih betina dapat menimbulkan aktivitas estrogenik, maka data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan analisis ragam untuk Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan lima ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Simplisia Herba Kemangi

Herba kemangi yang dibutuhkan sebanyak 25 kg yang setelah dikeringkan diperoleh 2,2 kg simplisia herba kemangi. Kadar air simplisia diukur dengan *moisture balance* sebesar 4,72%, kadar air ini memenuhi persyaratan kadar air untuk simplisia herba kemangi (Depkes, 2000).

Pembuatan Ekstrak n-Heksan Herba Kemangi

Simplisia yang telah diayak kemudian dimaserasi dengan pelarut n-heksan sebanyak 22 liter (1:10) diperoleh ekstrak herba kemangi sebanyak 68g dengan nilai rendemen sebesar 3,09%. Kadar air ekstrak n-heksan herba kemangi sebesar 6,47% yang diukur dengan *moisture balance*.

Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia yang telah dilakukan pada simplisia menunjukkan adanya kandungan steroid, alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid. Uji terhadap ekstrak n-heksan herba kemangi menunjukkan adanya kandungan steroid, flavonoid dan alkaloid, akan tetapi tidak teridentifikasi adanya saponin dan tanin. Hal ini disebabkan karena senyawa tersebut lebih bersifat polar sehingga tidak tertarik oleh pelarut n-heksan yang bersifat non polar.

Pengaruh Pemberian Ekstrak n-Heksan Herba Kemangi Terhadap Perubahan Waktu Siklus Estrus

Hasil pengujian ekstrak n-heksan herba kemangi terhadap perubahan waktu siklus estrus tikus menunjukkan bahwa kontrol negatif CMC Na 1% memberikan waktu siklus estrus yang paling rendah yaitu 110,6 jam. Pemberian ekstrak n-heksan herba kemangi dosis 0,8 g /200 g BB memberikan perubahan waktu siklus estrus yang paling besar yaitu 148,6 jam. Dari perlakuan kontrol positif maupun pemberian ekstrak n-heksan herba kemangi semua menunjukkan hasil yang sangat berbeda nyata ($P < 0.01$) bila dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak n-heksan herba kemangi dapat meningkatkan hormon estrogen sehingga menyebabkan peningkatan panjang siklus estrus. Peningkatan estrogen ini tidak secara langsung mempengaruhi panjang siklus estrus akan tetapi mampu meningkatkan perkembangan folikel sehingga folikel yang matang di ovarium semakin banyak dengan demikian hormon estrogen yang disekresikan juga akan semakin banyak sehingga cenderung akan memperpanjang siklus estrus.

Pengaruh Pemberian Ekstrak n-Heksan Herba Kemangi Terhadap Vaskularisasi Ovarium dan Uterus

Data yang dihasilkan menunjukkan bahwa semua perlakuan termasuk kontrol positif dan kontrol negatif memberikan hasil skoring vaskularisasi ovarium dan uterus yang tidak berbeda nyata. Hasil skoring yang paling rendah ditunjukkan oleh pemberian ekstrak n-heksan herba kemangi dosis 0,2 g/200 g BB dengan nilai rata-rata 2. Pemberian ekstrak n-heksan herba kemangi dosis 0,8 g/200 g BB memberikan skor paling tinggi yaitu rata-rata 2,4.

Pemberian ekstrak dosis 0,4 g/200 g BB telah memberikan pengaruh yang setara dengan kontrol positif ethinyl estradiol dosis 9×10^{-3} mg/200 g BB dalam meningkatkan vaskularisasi ovarium dan uterus. Vaskularisasi ini ditunjukkan dengan perubahan warna yang terdapat di mukosa ovarium dan uterus yang terjadi akibat peningkatan jumlah estrogen. Estrogen yang dihasilkan oleh ovarium akan menstimulasi pembentukan lapisan endometrium dinding uterus yang kemudian membentuk pembuluh darah baru dan sel-sel penghasil mukus sehingga uterus cenderung menebal dan berwarna merah.

Pengaruh Pemberian Ekstrak n-Heksan Herba Kemangi Terhadap Peningkatan Bobot Ovarium dan Uterus

Hasil yang diperoleh terlihat bahwa pada kelompok kontrol positif yang diberikan ethinyl estradiol menunjukkan bobot ovarium dan uterus yang paling rendah dibanding keempat kelompok perlakuan yang lain yaitu 1,26 g. Kelompok perlakuan ekstrak n-heksan herba kemangi dengan dosis 0,4 g/200 g BB menghasilkan peningkatan bobot ovarium dan uterus yang paling tinggi sebesar 1,72 g. Pengaruh pemberian ekstrak n-heksan herba kemangi tidak berbeda nyata pada setiap perlakuan.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan herba kemangi dengan dosis 0,2 g/200 g BB telah setara dengan ethinyl estradiol dosis 9×10^{-3} mg/200 g BB sebagai kontrol positif dalam meningkatkan bobot ovarium dan uterus tikus. Hal ini membuktikan bahwa fitoestrogen dapat meningkatkan bobot ovarium dan uterus tikus yang disebabkan oleh sifat estrogen yang mampu menimbulkan proliferasi dan pertumbuhan sel jaringan organ seksual pada sistem reproduksi yang secara tidak langsung berpengaruh pada peningkatan bobot jaringan tersebut. Hasil ini juga sebaiknya dibuktikan dengan pemeriksaan histologi jaringan agar dapat dipastikan bahwa peningkatan bobot ovarium dan uterus disebabkan oleh peningkatan jumlah folikel dalam ovarium dan uterus.

SIMPULAN

1. Ekstrak n-heksan herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) dapat menimbulkan aktivitas estrogenik pada organ target estrogen tikus putih (*Rattus norvegicus*) usia 8-9 bulan.
2. Ekstrak n-heksan herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) dosis 0,4 g/200 g BB dapat meningkatkan bobot ovarium dan uterus tikus.
3. Ekstrak n-heksan herba kemangi (*Ocimum americanum* L.) dosis 0,2 g/200 g BB dapat memperpanjang siklus estrus tikus putih betina usia 8-9 bulan yang sebanding dengan kontrol positif Ethinyl Estradiol 9×10^{-3} mg/200 g BB.

SARAN

- Perlu dilakukan pemeriksaan serum darah tikus dengan metode *bioassay* guna mengetahui kadar estrogen dalam darah.
- Perlu dilakukan pemeriksaan histologi terhadap ovarium dan uterus tikus guna mengetahui pengaruh pemberian ekstrak

n-heksan herba kemangi terhadap peningkatan jumlah folikel.

- Perlu dilakukan pemeriksaan lebih lanjut terhadap organ hati dan ginjal guna mengetahui toksisitas ekstrak n-heksan herba kemangi pada tubuh.

DAFTAR PUSTAKA

Depkes RI. 1989. *Materia Medika Indonesia*, Edisi V. Jakarta.

Effendi, E.M., H. Maheswari, M.I.M. Indra (2011). Uji aktifitas Estrogenik Ekstrak Etanol 70% Herba Kemangi (*Ocimum americanum*, L.) Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina Pre-Menopause. *Jurnal Fitofarmaka* Vol. 1 (1): 1-6.

_____.2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan*

Obat.Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta

Gunawan, S. G. 2007. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 5. Departemen Farmakologi dan Terapeutik UI. Gaya Baru. Jakarta

Hafez, E. S. E. 1980. *Reproduction in Farm Animal*, 4th Edition. Philadelphia: 30-78

Kurniawati, N. 2010. *Sehat dan Cantik Berkat Khasiat Bumbu Dapur*. Qanita. Jakarta

Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat, Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*, Edisi V. Penerbit ITB. Bandung: 364-370.