

Estrogenic Effects of Tapak Dara (*Catharantus roseus*) Leaf Methanol Extract on The Estrus Cycle of Adult Female Mice (*Mus musculus*) Balb/C Strain

Yunita Fatmala^{1*}, Mahrus¹, Lalu Zulkifli¹

¹Biology education, Teacher Training and Education Faculty, Mataram University, Indonesia

Article History

Received : July 20th, 2022

Revised : August 09th, 2022

Accepted : August 14th, 2022

*Corresponding Author:

Yunita Fatmala,

Universitas Mataram, Mataram,
Indonesia

Email:

Yunitafatmala16@gmail.com

Abstract: Tapak dara plant is a plant that contains several active compounds, such as phenolic acids, flavonoids and alkaloids. The tapak dara plant can act as a sedative, urinary laxative, stop bleeding, and neutralize toxins. In addition, tapak dara leaf extract contains ingredients that can act as antifertilization. This study aimed to determine the effect of methanol extract of tapak dara leaf on the estrus cycle of adult female mice (*Mus musculus*) Balb/C strain. This research is an experimental research by testing cause and effect. The hypothesis test used in this study was one-way ANOVA and BNT test. The significance value of giving tapak dara leaf methanol extract to female mice showed a significant value so that it can be said that the administration of tapak dara leaf methanol extract caused the estrus cycle of female mice to be longer. The significance value of estrogenic activity in mice shows a significant value of 0.047, so it can be said that estrogen activity also affects the length of the estrus cycle. The results of hypothesis testing using the one-way ANOVA test were significant, so it can be concluded that the methanol extract of tapak dara leaves can cause the estrus cycle of female mice to be longer.

Key words: *Estrus cycle, Estrogenic activity, Tapak dara*

Pendahuluan

Indonesia adalah salah satu negara yang memiliki penduduk terbanyak keempat di dunia setelah China, Amerika dan India. Banyaknya jumlah penduduk Indonesia disebabkan oleh laju pertumbuhan penduduk yang tinggi. Jumlah penduduk yang banyak ini berpengaruh pada kualitas kehidupan dan tingkat kesejahteraan penduduk. (Sumarmin dan Ramadhani, 2014).

Peningkatan jumlah penduduk yang sangat tinggi merupakan masalah yang serius bagi negara Indonesia. Terutama dalam kondisi perekonomian negara yang mulai terpuruk (Carolin *et al.*, 2019). Kenaikan yang tinggi dalam jumlah penduduk ini, berkaitan dengan terjadinya peningkatan angka pengangguran, tingginya angka kemiskinan serta bertambahnya angka kriminalitas. Salah satu upaya untuk menanggulangi masalah pertumbuhan penduduk yang sangat tinggi serta penurunan angka kematian ibu karena kehamilan adalah dengan menggunakan alat kontrasepsi (Carolin *et al.*,

2019).

Salah satu metode kontrasepsi yang dapat digunakan adalah kontrasepsi yang berasal dari tumbuhan atau lebih dikenal dengan kontrasepsi herbal. Kontrasepsi herbal merupakan salah satu upaya pemanfaatan tumbuhan sebagai kontrasepsi. Keunggulan kontrasepsi herbal antara lain efek penggunaan dari kontrasepsi herbal akan berangsur-angsur hilang sehingga kondisi fisiologis tubuh akseptor kembali normal apabila dilakukan penghentian pemakaian (Sumarmin dan Ramadhani, 2014). Tanaman herbal yang mengandung bahan bersifat estrogenik atau androgenik diduga dapat bekerja seperti hormon. Kekurangan hormon dapat memengaruhi perkembangan organ reproduksi, gangguan siklus reproduksi, dan tingkat fertilitas (Setyaningtjas *et al.*, 2016).

Hormon reproduksi yang sangat berperan adalah GnRH (gonadotropin releasing hormone), karena berfungsi dalam pertumbuhan jaringan organ-organ kelamin dan jaringan lain yang berkaitan dengan reproduksi. Hormon

estrogen dan progesteron dihasilkan di ovarium, serta FSH dan LH yang dihasilkan oleh hipofisis anterior. Hormon FSH dan LH diduga merupakan penginduksi utama terjadinya ovulasi. Pada manusia dan primate, siklus terjadinya ovulasi dalam suatu proses reproduksi diberi istilah siklus menstruasi sedangkan pada mamalia lain diberi istilah siklus estrus (Lusiana, 2017).

Hewan akan menunjukkan perilaku mau menerima hewan jantan pada saat fase estrus. Tanda-tanda estrus disebabkan oleh tingginya kadar estrogen dan hormon progesteron dalam kondisi basal. Dengan mengetahui siklus estrus pada hewan ternak, peternak dapat melakukan inseminasi buatan atau IB (Yekti *et al.*, 2017).

Rosa dan Lestari (2018) menyatakan bahwa daun tapak dara mengandung senyawa alkaloid yang berupa vinblastin, vinkristin, dan vindelin. Selain itu, tapak dara juga memiliki kandungan senyawa tanin, flavonoid, saponin, dan isoflavonoid. Kandungan daun tapak dara yang dapat mempengaruhi siklus estrus adalah senyawa flavonoid. Flavonoid adalah senyawa yang bersifat antiestrogen. Menurut Busman (2013) antiestrogen adalah hormon yang dapat menghambat dan mengganggu pertumbuhan folikel dan sekresi hormon estrogen.

Flavonoid yang bersifat antiestrogen dapat menyebabkan ovarium menjadi inaktif dan mengganggu sekresi estrogen endogen. Zat aktif tersebut mampu mempengaruhi kerja hormone dan metabolisme sel. Senyawa flavonoid berperan dalam memperbaiki sel-sel granulosa pada ovarium sehingga dapat menghambat sekresi FSH dan LH (Harlis *et al.*, 2018). Penurunan FSH dan LH dapat menyebabkan gangguan pada siklus estrus.

Siklus estrus disertai oleh perubahan fisiologi di dalam saluran kelamin betina. Siklus estrus terdiri dari empat fase yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus. Menurut Bahri *et al* (2021) normalnya, siklus estrus pada mencit betina berlangsung selama 4 hari, sedangkan menurut Susanto *et al* (2022) siklus estrus mencit berlangsung selama 4-5 hari. Cepat lambatnya siklus estrus pada mencit betina dipengaruhi oleh faktor intrinsik yaitu dari dalam mencit itu sendiri dan faktor ekstrinsik yaitu faktor dari luar mencit. Siklus estrus dikendalikan oleh beberapa hormon diantaranya hormon estrogen. Estrogen dapat menimbulkan respon terhadap aktivitas

betina seperti: perkembangan sifat seksual sekunder, perilaku persiapan kawin (estrus), kombinasi dengan progesteron mempersiapkan uterus untuk implantasi dan kombinasi dengan prolaktin menyiapkan perkembangan kelenjar susu.

Beberapa peneliti telah melakukan penelitian menggunakan ekstrak daun tapak dara dan efek estrogenik mencit betina (Alfian *et al.*, 2018, Bahri *et al.*, 2021, Darma *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan Bahri *et al.*, (2021) menggunakan ekstrak buah tomat terhadap mencit betina dewasa. Sementara itu penelitian Darma *et al.*, (2017) menggunakan ekstrak daun pegagan terhadap siklus estrus mencit. Kemudian penelitian yang dilakukan Alfian *et al.*, (2018) menggunakan ekstrak biji pepaya terhadap mencit betina.

Berdasarkan penjelasan di atas, peneliti tertarik melakukan penelitian mengenai efek estrogenik ekstrak metanol daun tapak dara terhadap mencit betina yang dapat dilihat dengan melakukan apusan vagina. Penggunaan daun tapak dara dalam penelitian ini dikarenakan tanaman tapak dara mudah ditemukan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber tambahan informasi dan data dasar mengenai efek estrogenik ekstrak metanol daun tapak dara terhadap mencit betina dan menjadi rujukan bagi penelitian di masa mendatang.

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah untuk mengetahui efek ekstrak metanol daun tapak dara terhadap siklus estrus mencit betina dewasa (*Mus musculus*) galur Balb/C. Penelitian ini dapat diharapkan memberikan manfaat kepada pembaca untuk meningkatkan pengetahuan dan pemahaman mengenai efek estrogenik ekstrak metanol daun tapak dara terhadap siklus estrus mencit betina dewasa (*Mus musculus*) galur Balb/C.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas Mataram pada 23 Agustus – 17 September 2021.

Alat dan bahan penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Neraca O'haus, timbangan, toples kaca bening, aluminium foil, jarum gavage,

mikroskop, dan cotton buds. Sedangkan bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari daun tapak dara, mencit, NaCl, metanol, dan *methylen blue*.

Persiapan hewan coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina dewasa (*Mus musculus*) galur Balb/C dengan berat 20-23 gram. Hewan coba dikelompokkan menjadi lima kelompok. Masing-masing kelompok terdiri atas lima ekor mencit betina. Pengujian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dilakukan terhadap 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol diberikan aquadest, kelompok perlakuan 1 diberikan ekstrak metanol daun tapak dara dengan dosis 5 mg/BB, kelompok perlakuan 2 diberikan ekstrak metanol daun tapak dara dengan dosis 10 mg/BB, kelompok perlakuan 3 diberikan ekstrak metanol daun tapak dara dengan dosis 15 mg/BB, dan kelompok perlakuan 4 diberikan ekstrak metanol daun tapak dara dengan dosis 20 mg/BB. Perlakuan diberikan dengan 5 kali pengulangan.

Pembuatan ekstrak

Penelitian yang telah dilakukan melalui beberapa tahap, tahap pertama adalah pembuatan ekstrak metanol daun tapak dara. Daun tapak dara yang digunakan adalah daun yang berwarna hijau dan terletak antara helaian daun ketiga dari pucuk dan helaian ketiga dari pangkal. Daun tapak dara dicuci kemudian diangin-anginkan hingga warnanya menjadi hijau kecoklatan, dan tekstur daun dalam keadaan renyah saat diremas. Daun yang sudah kering diblender sampai halus kemudian direndam menggunakan metanol selama 3 hari. Hasil rendaman dituangkan kedalam mangkok kemudian diuapkan selama 10-15 menit hingga diperoleh ekstrak yang kental. Ekstrak daun tapak dara yang didapatkan diberikan kepada mencit betina dewasa galur Balb/C dengan metode oral menggunakan jarum gavage.

Pemberian perlakuan

Tahap selanjutnya dalam penelitian ini adalah pemberian perlakuan ekstrak daun tapak dara terhadap mencit betina dengan berbagai dosis. Sebelum pemberian perlakuan, mencit betina ditimbang berat badannya, kemudian melakukan apusan vagina untuk mengetahui

siklus estrusnya. Perlakuan diberikan pada hewan coba 25 ekor mencit betina yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol yang diberikan aquadest, kelompok perlakuan I diberikan ekstrak daun tapak dara 5 mg/BB, kelompok perlakuan II diberikan ekstrak daun tapak dara 10 mg/BB, kelompok perlakuan III diberikan ekstrak daun tapak dara 15 mg/BB, dan kelompok perlakuan IV diberikan ekstrak daun tapak dara 20 mg/BB. Perlakuan diberikan selama 10 hari, dan pada hari ke-11 dilakukan pengamatan apusan vagina. Ekstrak daun tapak dara diberikan dua kali sehari yaitu pada pagi dan sore hari.

Pengamatan siklus estrus

Langkah-langkah dalam melakukan apusan vagina mencit (*Mus musculus*) menggunakan cotton buds adalah membasahi cotton buds dengan NaCl 0,9% kemudian dimasukkan ke vagina mencit dan digosok perlahan. Cotton buds dioleskan pada kaca benda secara tipis dan searah kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 5-10 menit. Hasil olesan yang sudah kering diberi pewarna *methylene blue* kemudian didiamkan kurang lebih 30 menit. Preparat dibilas menggunakan aquadest. Kelebihan pewarna dan aquadest dibersihkan menggunakan tisu. Preparat ditutup menggunakan kaca penutup kemudian diamati menggunakan mikroskop.

Analisis Data

Data yang di dapatkan dalam penelitian ini diuji secara kuantitatif. Analisis data secara kuantitatif menggunakan uji ANOVA (*Analysis Of Variance*) satu jalur dan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Uji BNT (Beda Nyata Terkecil), digunakan untuk membedakan dua rataan perlakuan. Syarat menggunakan uji lanjut BNT adalah nilai F harus homogen. Perhitungan uji ANOVA dan uji BNT menggunakan SPSS 23.

Hasil dan Pembahasan

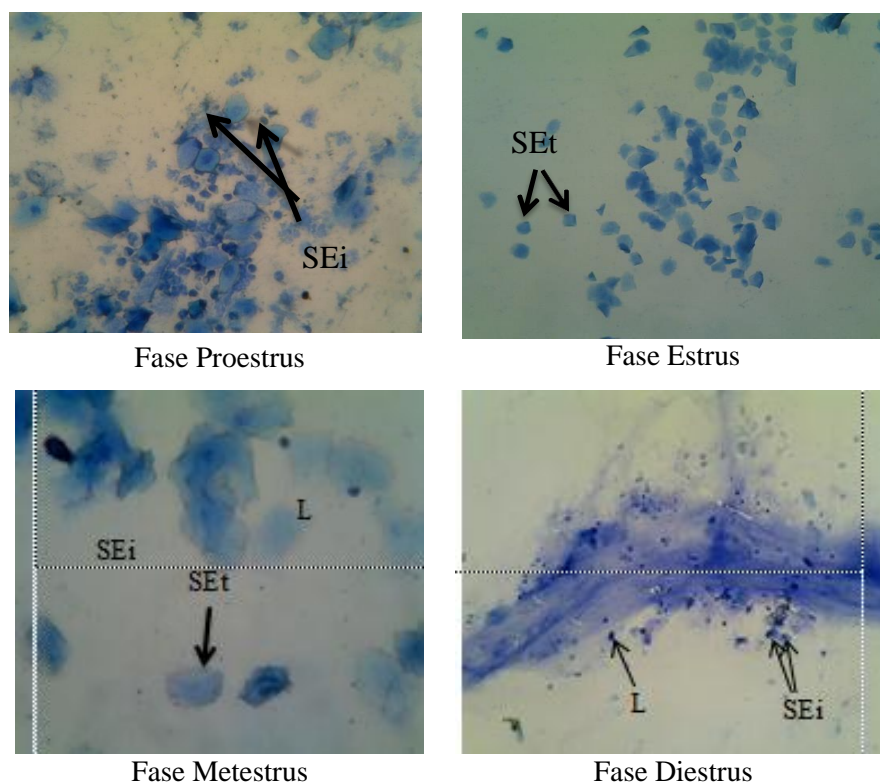
Hasil pengamatan siklus estrus mencit setelah pemberian perlakuan selama 10 hari

Siklus estrus merupakan siklus reproduksi pada hewan mamalia. Dalam siklus estrus, terjadi perubahan fisiologis dari alat kelamin betina, dapat berupa perubahan sel-sel di bagian vagina mencit. Perubahan ini bersifat sambung

menyambung satu sama lain, hingga akhirnya bertemu kembali pada permulaannya. Terdapat empat fase dalam siklus estrus yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus. Proestrus merupakan fase persiapan. Hasil apus vagina pada fase proestrus adalah sel epitel masih berbentuk bulat dan berinti. (SEi), fase estrus merupakan fase terpenting dalam siklus.

Fase ini ditandai dengan banyaknya sel epitel menaduk (SEt) pada apusan vagina. Pada fase ini pula hewan betina mau menerima

pejantan untuk kopulasi. Metestrus merupakan fase yang terjadi segera setelah estrus selesai. Fase ini ditandai dengan adanya sel epitel menaduk (SEt), sel epitel berinti (SEi) dan leukosit (L) pada apusan vagina. Diestrus merupakan fase terlama dalam siklus ini. Fase ini ditandai dengan adanya sel epitel berinti (SEi) dan leukosit yang banyak pada apusan vagina. Hasil pengamatan siklus estrus mencit betina dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Fase-fase dalam siklus estrus

Hasil penelitian menunjukkan adanya perubahan lama siklus estrus mencit setelah pemberian ekstrak daun tapak dara (*Catharantus roseus*) selama 10 hari. Kelompok kontrol yang diberikan aquades, mengalami rata-rata siklus estrus selama 11,8 hari. Selanjutnya, pada kelompok perlakuan I rata-rata siklus estrus selama 14 hari. Kemudian pada kelompok perlakuan II rata-rata siklus estrus selama 15 hari. Sementara itu untuk kelompok perlakuan III rata-rata siklus estrus selama 15,6 hari, dan kelompok perlakuan IV rata-rata siklus estrus selama 17 hari. Data ini menjelaskan bahwa semakin tinggi

dosis yang diberikan, siklus estrus yang dialami mencit betina semakin lama.

Pengujian hipotesis dilakukan melalui ANOVA satu arah menggunakan SPSS 23 dan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Tabel Hasil uji ANOVA satu jalur menggunakan SPSS 23 hasil pengamatan siklus estrus mencit betina dapat dilihat pada tabel 1. Hasil uji one way anova terhadap panjang siklus estrus mencit betina menunjukkan nilai signifikannya < 0.05 sehingga dapat dikatakan pemberian ekstrak metanol daun tapak dara berpengaruh terhadap siklus estrus mencit betina.

Tabel 1. Hasil uji ANOVA siklus estrus mencit betina

| | Sum of Squares | Df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|-------|
| Between Groups | 75.440 | 4 | 18.860 | 14.508 | 0.000 |
| Within Groups | 26.000 | 20 | 1.300 | | |
| Total | 101.440 | 24 | | | |

Pemberian ekstrak metanol daun tapak dara berpengaruh terhadap lamanya siklus estrus mencit betina. Kemudian dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji beda nyata terkecil (BNT). Hal ini dilakukan untuk mengetahui lebih jauh apakah ada perbedaan secara signifikan diantara perlakuan. Hasil uji BNT menunjukkan ada beberapa yang menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan pada perlakuan. Uji BNT untuk kelompok perlakuan dosis 5 mg/BB dengan kelompok perlakuan dosis 10 mg/BB memiliki nilai signifikansi $0.643 > 0.05$.

Kelompok perlakuan dosis 5 mg/BB dengan kelompok perlakuan dosis 15 mg/BB

memiliki nilai signifikansi $0.213 > 0.05$. Uji BNT untuk kelompok perlakuan dosis 10 mg/BB dengan kelompok perlakuan dosis 15 mg/BB memiliki nilai signifikansi $0.917 > 0.05$. Selanjutnya kelompok perlakuan dosis 10 mg/BB dengan kelompok perlakuan 20 mg/BB memiliki nilai signifikansi $0.078 > 0.05$. Sementara itu hasil uji BNT untuk kelompok perlakuan dosis 15 mg/BB dengan kelompok perlakuan dosis 20 mg/BB memiliki nilai signifikansi $0.329 > 0.05$. Jika nilai signifikan yang didapatkan > 0.05 maka tidak ada perbedaan secara signifikan pada perlakuan tersebut.

Tabel 2. Uji BNT pengaruh ekstrak metanol daun tapak dara terhadap siklus estrus mencit betina

| Perlakuan | Perlakuan | Sig. |
|-----------|-----------|--------|
| Kontrol | 5 mm/hg | 0.044 |
| | 10 mm/hg | 0.002 |
| | 15 mm/hg | 0.000 |
| | 20 mm/hg | 0.000 |
| 5 mm/hg | Kontrol | 0.044 |
| | 10 mm/hg | 0.643* |
| | 15 mm/hg | 0.213* |
| | 20 mm/hg | 0.004 |
| 10 mm/hg | Kontrol | 0.002 |
| | 5 mm/hg | 0.643* |
| | 15 mm/hg | 0.917* |
| | 20 mm/hg | 0.078* |
| 15 mm/hg | Kontrol | 0.000 |
| | 5 mm/hg | 0.213* |
| | 10 mm/hg | 0.917* |
| | 20 mm/hg | 0.329* |
| 20 mm/hg | Kontrol | 0.000 |
| | 5 mm/hg | 0.004 |
| | 10 mm/hg | 0.078* |
| | 15 mm/hg | 0.329* |

Keterangan: Angka yang diikuti dengan notasi yang sama tidak berbeda nyata pada Uji BNT

Kandungan daun tapak dara yang menyebabkan penambahan lama siklus estrus mencit adalah senyawa flavonoid yang bersifat anti estrogen. Hasil penelitian ini dipertegas oleh Busman (2014) yang menyatakan bahwa antiestrogen merupakan senyawa yang dapat menghambat kerja hormon estrogen. Hormon antiestrogen bersaing dengan estrogen

memperebutkan reseptor sehingga terjadi penghambatan kerja hormon estrogen.

Akibat dari aktivitas ini maka terjadi penghambatan sekresi hormon estrogen, dan pengeluaran LH, serta menghambat terjadinya ovulasi. Apabila sekresi LH terhambat, maka pertumbuhan korpus luteum menurun. FSH dan LH berfungsi memicu perkembangan folikel

terutama perkembangan sel-sel teka dan sel granulosa. Namun, apabila kerja FSH dan LH dihambat oleh senyawa antiestrogen, maka perkembangan folikel akan terhambat.

Panjang siklus estrus dipengaruhi oleh hormon estrogen. Menurut Narulita *et al* (2016) pada keadaan normal kadar estrogen pada fase diestrus menurun sehingga merangsang FSH untuk pertumbuhan folikel. Kadar estrogen pada mencit yang mengalami perlakuan akan meningkat menyebabkan percepatan penebalan epitel untuk memasuki fase proestrus. Adapun terjadinya fase estrus yang lebih lama pada perlakuan dikarenakan estrogen yang berikatan pada masing-masing RE α sel epitel vagina lebih banyak dibandingkan kontrol. Pengikatan estrogen pada RE α sel epitel vagina menyebabkan diferensiasi sel- sel epitel vagina. Hal tersebut yang kemudian menyebabkan keratinisasi pada lapisan bagian atas epitel vagina sehingga siklus estrus berlangsung lebih lama dari yang normal. Oleh karena itu, pemberian ekstrak metanol daun tapak dara menyebabkan siklus estrus pada mencit semakin lama, sehingga peluang kebuntingannya menjadi kecil.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat disimpulkan ekstrak metanol daun tapak dara dapat memperlambat siklus estrus dari siklus normal mencit betina dewasa galur Balb/C. Kandungan daun tapak dara yang menyebabkan efek estrogenik adalah senyawa flavonoid yang merupakan bahan antiestrogen.

Ucapan Terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penulisan ini sampai dipublish.

Referensi

Bahri, S., Irmayani, Aulia, J., Lathifah, M. F., & Adawiyah. R. (2021). Efek Estrogenik Ekstrak Buah Tomat (*Lycopersicon Esculentum*) Terhadap Mencit Betina Dewasa (*Mus Musculus*) Galur Balb/C. *Jurnal Pijar MIPA*. Vol. 16. No. 2: 222-227. DOI: <https://doi.org/10.29303/jpm.v16i2.2420>

Busman, H. (2013). Histologi Ulas vagina Dan Waktu Siklus Estrus Masa Subur Mencit Betina Setelah Pemberian Ekstrak Rimpang Rumput Teki. *Prosiding Seminar FMIPA Universitas Lampung*: 371-375.

<http://repository.lppm.unila.ac.id/id/eprint/13443>

Carolin, B.T., Salni, & Nita, S. (2019). Pengaruh Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus Rosa-Sinensis* Linn.) Terhadap Epididimis, Prostat Dan Vesikula Seminalis. *Biomedical Journal of Indonesia: Jurnal Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*. Vol. 5, no. 1: 1-9.

<https://www.jurnalkedokteranunsri.id/index.php/BJI/article/download/351/223>

Lusiana, Nova (2017). Pengaruh Fitoestrogen Daging Buah Kurma Ruthab (*Phoenix Dactylifera* L.) Terhadap Sinkronisasi Siklus Estrus Mencit (*Mus Musculus* L.) Betina. *Klorofil*. Vol. 1, No. 1: 24-31. DOI:

<http://dx.doi.org/10.30821/kfl:jbt.v1i1.1238>

Rosa, Yunilda, & Aprilia Lestari (2018). Uji Efektivitas Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus Roseus* L.) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Jurnal Kesehatan: Jurnal Ilmiah Multi Sciences*. 8(02): 153-158. DOI:

<https://doi.org/10.52395/jkjims.v8i02.58>

Sumarmin, Ramadhan, & Siska A Ramdhani (2014). Uji In Vivo Ekstrak Biji Kapas (*Gossypium hirsutum* L.) Terhadap Siklus Reproduksi Mencit (*Mus musculus* L., Swiss Webster). *EKSAKTA*. 2:74-81. <http://ejournal.unp.ac.id/index.php/eksakta/article/view/4118>

Susanto, Bela Novita Amaris, Nofri Zayani, & Nindita Clouris Amaris Ssusanto (2022). *Batang Pohon Bajakah Tampala*. Pekalongan: PT Nasya Expanding Management

Yekti, Aulia Puspita Anugra, Trinil Susilawati, & Muhammad Nur Ihsan (2017). *Fisiologi Reproduksi Ternak*. Malang: UB Press.