**EFEK DARI EKSTRAK ETANOL 96% BERAS HITAM*(ORYZA SATIVA L)* PADA TIKUS PUTIH BETINA *(RATTUS NORVEGICUS)* PRE- MENOPAUSE**

**EFFECT OF ETHANOL EXTRACT 96% BLACK RICE (ORYZA SATIVA L) ON PRE-MENOPAUSE WHITE BETTER RICE (RATTUS NORVEGICUS)**

**1Ardiansyah, 2Mahrun**

**1Prodi Pendidikan Biologi STKIP AL AMIN DOMPU**

**2Prodi Pendidikan Biologi STKIP AL AMIN DOMPU**

**Email: 1**[ardiansyah.bima@gmail.com](mailto:ardiansyah.bima@gmail.com), [2mahrumpd100787@gmail.com](mailto:2mahrumpd100787@gmail.com)

**Abstrak.** Adaptasi dilakukan pada 20 ekor tikus betina *(Rattus norvegicus)* tikus percobaan selama 1 minggu dengan berat badan sekitar 200-250 g.Setelah satu minggu, tikus-tikus percobaan tersebut dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan masing- masingkelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Kelompok kontrol positif (P1) diberi per oral etinil estradiol dengan dosis 9×10-3 mg/ 200g BB dalam CMC- Na 1% sebanyak 3 mL.

Kelompok kontrol negatif (P2) diberi per oral CMC-Na 1% / 200g BB sebanyak 3 mL. Kelompok Uji I (P3) diberi per oral ekstrak etanol 96% Beras Ketan Hitam dengan dosis yang setara dengan 1 mL ekstrak kental dalam dosis 0,8g/200g BB dalam CMC-Na 1% sebanyak 3 mL. Kelompok Uji II (P4) diberi per oral ekstrak etanol 96% Beras Ketan Hitam dengan dosis yang setara dengan 2 mL ekstrak kental dalam dosis 1,6g/200g BB dalam CMC-Na 1% sebanyak 3 mL. Kelompok Uji III (P5) diberi per oral ekstrak etanol 96% Beras Ketan Hitam dengan dosis yang setara dengan 4 mL ekstrak kental dalam dosis 3,2g/200g BB dalam CMC-Na 1% sebanyak 3 mL. Semua perlakuan dilakukan secara per oral selama satu kali siklus estrus, dimulai pada saat berlangsungnya fase estrus. Penyeragaman saat fase estrus dilakukan dengan metode Whitten Effect dengan cara meletakkan kandang tikus jantan diatas kandang tikus betina

**Kata Kunci : Tikus Petina** *(Rattus norvegicus),* Beras Ketan Hitam *(Oryza Lativa)*

**Abstrack.** Adaptation was carried out on 20 female rats (Rattus norvegicus) experimental rats for 1 week weighing about 200-250 g. After one week, the experimental rats were divided into 5 treatment groups with each group consisting of 4 rats. The positive control group (P1) was given orally ethinyl estradiol at a dose of 9 × 10-3 mg / 200g BW in 1% CMC-Na as much as 3 mL.

The negative control group (P2) was given orally 3 mL CMC-Na 1% / 200g BW. Test Group I (P3) was given orally 96% ethanol extract of black sticky rice with a dose equivalent to 1 mL of thick extract in a dose of 0.8g / 200g BW in 3 mL 1% CMC-Na. Test Group II (P4) was given orally 96% ethanol extract of black glutinous rice with a dose equivalent to 2 mL of thick extract in a dose of 1.6g / 200g BW in 3 mL 1% CMC-Na. Test Group III (P5) was given orally 96% ethanol extract of black sticky rice with a dose equivalent to 4 mL of thick extract in a dose of 3.2g / 200g BW in 3 mL 1% CMC-Na. All treatments were carried out orally during one estrous cycle, starting during the estrous phase. Uniformity during the estrous phase was carried out using the Whitten Effect method by placing the cage of male rats over the cages of female rats.

**Keywords**: francaigh baineann (R. norvegicus), Rís Glutinous Dubh (Oryza Sativa L.)

**PENDAHULUAN**

1. Beras Hitam

Beras merupakan bahan pangan yang sangat penting untuk dikonsumsi masyarakat dunia. Terdapat tiga jenis beras yaitu beras putih, merah dan hitam. Beras hitam mengandung senyawa antosianin yang termasuk dalam jenis flavonoid dan senyawa fenolik. Kandungan zat antioksidan yaitu polifenol pada beras juga dipengaruhi oleh genotipe (Yomadeet al.,2011).

Beras hitam mengandungantosianin. Antosianin termasuk dalamgolongan flavonoid, satu golongan polifenol yang beroeran dalam pangan karena efek biologisnya dan berada dalam bentuk glikosida atau terkait dengan komponen gula (mono, di, atau triglikosida

Dengan ikatan alfa dan beta). Antioksidan adalah substansi yang diperlukan untuk menetralisir radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stresoksidatif (E. Muliyati Efendi. 2015).

Berdasarkan penelitian sebelumnya diatas, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas estrogenik ekstrak etanol 70% Beras Wangi(Oryza sativa L)pada tikus putih betina (Rattus norvegicus) premenopause juga melakukan pengamatan vaskularisasi ovarium dan uterus pada fase estrus (E. Muliyati Efendi. 2015).

Tanaman yang mengandung senyawa fenol dan antosianin dalam kadar tinggi adalah spesies Vaccinium (seperti blueberry, cranberry, dan bilberry), anggur, apel, beras hitam (Oryza sativa L. indica), terong, dan kubis merah.6 Beras hitam merupakan bahan pangan yang banyak ditemukan di negara berkembang dan 95% diproduksi oleh negara kawasan Asia.8 Beras hitam mempunyai kandungan senyawa fenol dan antosianin yang lebih tinggi dari jenis beras lainnya, seperti beras putih dan beras merah (ZanuarAbidin. 2016).

Senyawa fenol dalam ekstrak etanol beras hitam dapat mencegah pertumbuhan kanker karena dapat menurunkan aktivitas siklin dan menghambat jalur ERK, JNK, MAPK, NF-κB dan AP1. Antosianin dalam ekstrak etanol beras hitam dapat menghambat jalur PI3K. Penghambatan jalur PI3K oleh ekstrak etanol beras hitam menyebabkan penurunan fosforilasi PKB sehingga terjadi penurunan aktivitas proproliferasi dan antiapoptosis. Antosianin juga dapat menurunkan aktivitas protein siklin, NF-κB dan AP1 (ZanuarAbidin. 2016).Tanaman yang mengandung senyawa fenol dan antosianin dalam kadar tinggi adalah spesies Vaccinium (seperti blueberry, cranberry, dan bilberry), anggur, apel, beras hitam (Oryza sativa L. indica), terong, dan kubis merah.6 Beras hitam merupakan bahan pangan yang banyak ditemukan di negara berkembang dan 95% diproduksi oleh negara kawasan Asia.8 Beras hitam mempunyai kandungan senyawa fenol dan antosianin yang lebih tinggi dari jenis beras lainnya, seperti beras putih dan beras merah (Pengkumsri N, dkk. 2015).

Tikus Betina

Tikus (Rattus sp) termasuk binatang pengerat yang merugikan dan termasuk hama terhadap tanaman petani. Selain menjadi hama yang merugikan, hewan ini juga membahayakan kehidupan manusia. Sebagai pembawa penyakit yang berbahaya, hewan ini dapat menularkanpenyakit seperti wabah pes dan leptospirosis. Hewan ini, hidup bergerombol dalam sebuah lubang. Satu gerombol dapat mencapai 200 ekor. Di alam tikus ini dijumpai di perkebunan kelapa, selokan dan padang rumput. Tikus ini mempunyai indera pembau yang sangat tajam

Perkembangbiakan tikus sangat luar biasa. Sekali beranak tikus dapat menghasilkan sampai 15 ekor, namun rata-rata 9 ekor. Nama lain hewan ini di berbagai daerah di Indonesia, antara lain di Minangkabau orang menyebutnya mencit, sedangkan orang Sunda menyebutnya beurit. Tikus yang paling terkenal ialah tikus berwarna coklat, yang menjadi hama pada usaha-usaha pertanian dan pangan yang disimpan di gudang. Tikus albino (tikus putih) banyak digunakan sebagai hewan percobaan di laboratorium.

Klasifikasi tikus putih adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Filum :Chordata

Kelas :Mammalia

Ordo : Rodentia

Subordo : Odontoceti

Familia : Muridae

Genus :Rattus

Spesies : Rattusnorvegicus



1. Gambar 1. Tikus Putih *(R norvegicus)*

Belajar identifikasi tikus diawali dengan belajar mengenai taksonomi yaitu ilmu yang menyangkut teori klasifikasi yangmeliputi dasar,prinsip dan prosedur/aturannya serta analisis variasinya. Secara lebih sederhana lagi taksonomi dapat dianggap sebagai ilmu tentang penamaan suatu organisme. Nama suatu organisme sangat penting, sebab tanpa suatu namakita tidak bisa membicarakan tentang suatu binatang yang kita maksud, disamping itu dalam suatu organisme melekat segala sifat dan ciri – ciri tertentu. Nama jenis (spesies) selalu terdiri dari dua nama atau binomial. Selain itu nama ilmiah harus menggunakan bahasa latin atau bahasa yang dilatinkan. Aturan demikian tercantum dalam “Kode Internasional Tata Nama Zoologi (*International Code Of Zoological Nomenclatur* disingkat ICZN)”. Nama binomial merupakan temuan Linnaeus yang amat penting dalam dunia taksonomi karena nama binomial mencegah duplikasi nama,

Di dunia rodentia ada 29 suku/familia, 468 marga/genera dan 2.052 jenis / spesies, sedangkan di Indonesia ada tiga suku ialah Scuridae, Muridae dan Hystricidae. Ketigasuku tersebut dipilahkan berdasarkan konsistensi rambut, kelebatan dan panjangnya rambut yang tumbuh di ekor, serta adanya dan ukuran *foramen orbitalis*. Anggota Scuridae (suku bajing – bajingan) di Indonesia ada 54 jenis, Muridae (sukutikus–tikusan)ada171jenisdanHystricidae(suku landak – landakan) ada 6 jenis.Di Jawa suku Scuridae ada 8 marga, 12 jenis; Muridae ada 10 marga, 22 jenis. Hystricidae hanya mempunyai anggota tunggal.Dengan demikian di Jawa anggota rodent ada 35 jenis. Scuridae memiliki 2 anak suku yaitu Scurinae (bajing) dan Petauristinae (bajing terbang). Muridae memiliki anak suku tunggal Murinae.

Rodentia berasal dari bahasa latin “rodere” artinya binatang mengerat yang dicirikan dengan adanya dua buah gigi seri atas maupun bawah yang tidak memiliki akar gigi, relative tumbuh besar dan panjang dan tumbuh terus sepanjang hidupnya, tidak bertaring, ada rumpang atau celah antara gigi seri dan geraham. Akibat pertumbuhan gigi seri sepanjang hidupnya, rodent harus menjaga panjang gigi serinya agar gigi seri tidak menembus tengkorak. Caranya rodent harus mengasah gigi serinya dengan cara mengkrikit benda–benda keras disekitarnya. Oleh karena itu tikus sebagai salah satu jenis rodent berperan sebagai hama baik di daerah pertanian maupunperkotaan.

Beberapa ciri morfologi dan anatomi dari tikus diantaranya :

**Ciri Kuantitatif**

Panjang Total (PT): panjang dari ujung ekor sampai ujung hidung, diukur dalam posisi tubuh lurus dan terlentang.

Panjang badan dan kepala (BK): panjang total dikurangi panjang ekor. Panjang kaki belakang (KB): diukur dari ujung tumit sampai ujung jari kaki, terpanjang. Pengukuran KB tanpa cakar disebut sineunguis (s.u), dengan cakar disebut cum unguis (c.u).

Panjang telinga (T): diukur dari pangkal telinga ke titikyangterjauhdidauntelinga.

Bobot tubuh (B): diukur dengan menggunakan timbangangantungmerekPesola.

**Ciri Kualitatif**

Rambut pengawal (guard hair); rambut tikus yang berukuran lebih panjang dari pada rambut bawah (under fur). Rambut pengawal ada yang berbentuk duri ada yang tidak seperti Rattus norvegicus dan Bandicota indica. rambut pengawal bentuk duri biasanya pangkal melebar dan ujungnya menyempit. Konsistensi rambut pengawal bentuk duri biasanya pangkal melebar dan ujungnya menyempit. Konsistensi rambut pengawal bentuk duri bisa halus bisa kasar dan bahkan kaku seperti pada sebagian besar anggota Maxomys, Rattus exulans dan sebagian anggota Niviventer. Pada Rattus tanezumi, rambut pengawal bentuk duri tidak kaku.

Warna rambut : perlu diperhatikan apakah warna rambut punggung dan perut berbeda nyata (kontras) atau tidak seperti pada tikus rumah (R.tanezumi). Tikus riul (R. norvegicus) antara warna rambut perut dan punggung tidak berbeda nyata, sebaliknya pada tikus belukar (Rattus tiomanicus) dan tikus sawah (Rattus argentiventer) warna perut dan punggung berbeda nyata. Warna rambut perut ada yang putih bersih seperti pada R. tiomanicus, ada yang abu – abu seperti pada Mus sp, Rattu sexulans,R. tanezumi dan R. norvegicus.

Rumus puting susu : angka depan menunjukkan jumlah pasangan putting susu yang tumbuh didada, sedang angka belakang menunjukkan pasangan putting susu yang tumbuh di perut sebagai contoh rumus putting susu R. tanezumi: M=2+3.

Warna ekor : beberapa jenis tikus memiliki warna permukaan bawah dan atas tidak sama atau dwiwarna seperti pada semua anggota Maxomys, sebagian besar Niviventer dansebagian Leopoldamys. Gigi seri atas : warna dan bentuk gigi seri. Ada tiga macam bentuk gigi seri yaitu prodont apabila sumbu gigi seri menghadap ke depan, opisthodont apabila sumbu gigi seri mengarah ke belakang, orthodont apabila sumbu gigi seri arahnya tegak.

Foramina incisivum: posisi terhadap geraham depan (beberapa jenis tikus foramina incisivum mencapai geraham depan seperti pada semua anggota Rattus, ada yang tidak seperti pada semua anggota Maxomys. Selain posisi foramina, ukuran foramina juga perlu diperhatikan misalnya pada semua anggota Maxomys memiliki foramina yang pendek lebar. Tulang langit–langit (palatum) belakang: posisinya terhadap geraham belakang. Beberapa jenis tikus palatum belakang terletak di belakang geraham belakang seperti pada anggota Rattus, tetapi ada pula yang terletak di depan geraham belakang sepertipada Maxomys.

Arah sumbu gigi seri atas juga bisa untuk membantu dalam identifikasi tikus, misalnya ada gigi seri yang prodont artinya sumbu gigi seri mengarah kedepan, orthodont artinya sumbu gigi seri tegak lurus dan opisthodont artinya sumbu gigi seri arahnya ke belakang.

Ukuran lempeng zigomatik juga penting dalam identifikasi misalnya lempeng zigomatik pada R. argentiventer lebih lebar daripada R. tiomanicus dan R. tanezumi. Selain ukuran, bentuk dan arah bagian depan lempeng zigomatik juga dapat membedakan jenis.

**METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai September 2019 bertempat di Laboratorium Prodi Pendidikan Biologi STKIP AL AMIN DOMPU.

# Bahan

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Sprague-Dawley pre-menopause berumur 8-9 bulan dengan bobot badan sekitar 200-250 g sebanyak 20 ekor, NaCl fisiologis, Beras Ketan Hitam pewarna Giemsa, metanol 10%, etanol 96 %, etinilestradioldan CMC-Na 1%.

# Alat

*Rotary evaporator* (BUCHI), *grinder*, ayakan 40 Mesh, mikroskop, sonde, kaca arloji, stop watch, pengaduk gelas, alat maserasi, gelas kimia, kain flannel, timbangan analitik, perlengkapan untuk membuat preparat apus vagina (*cotton bud*, gelas objek, cawan petri, bunsen), kandang tikus ukuran 30 x 40 cm, lampu, bak plastik, kawat penutup, dan botol minum.

# Cara Kerja

Penelitian terbagi menjadi 2 tahap yaitu tahap pra-penelitian dan tahap penelitian.

Ekstraksi

Sebanyak 1 kg Beras ketan yang telah dihaluskan, dimaserasi dengan pelarut etanol 96% (perbandingan 1:10) dalam tabung selama 3 x 24 jam. Kemudian disaring dan ampasnya dimaserasi kembali sebanyak 2 kali dengan perlakuan yang sama. Maserat yang terkumpul dievaporasi dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 30-40°C hingga terbentuk ekstrak kental etanol.

**Penapisan Fitokimia**

Ekstrak kental di uji terhadap alkaloid, saponin, tanin, Zat Lain dan steroid

**Tahap Pra-Penelitian**

Adaptasi dilakukan pada 20 ekor tikus betina (Rattus norvegicus) tikus percobaan selama 1 minggu dengan berat badan sekitar 200-250 g.Setelah satu minggu, tikus-tikus percobaan tersebut dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan masing- masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus. Kelompok kontrol positif (P1) diberi per oral etinil estradiol dengan dosis 9×10-3 mg/ 200g BB dalam CMC- Na 1% sebanyak 3 mL.

Kelompok kontrol negatif (P2) diberi per oral CMC-Na 1% / 200g BB sebanyak 3 mL. Kelompok Uji I (P3) diberi per oral ekstrak etanol 96% Beras Ketan Hitamdengan dosis yang setara dengan 1 mL ekstrak kental dalam dosis 0,8g/200g BB dalam CMC-Na 1% sebanyak 3 mL. Kelompok Uji II (P4) diberi per oral ekstrak etanol 96% Beras Ketan Hitam dengan dosis yang setara dengan 2 mL ekstrak kental dalam dosis 1,6g/200g BB dalam CMC-Na 1% sebanyak 3 mL. Kelompok Uji III (P5) diberi per oral ekstrak etanol 96% Beras Ketan Hitamdengan dosis yang setara dengan 4 mL ekstrak kental dalam dosis 3,2g/200g BB dalam CMC-Na 1% sebanyak 3 mL. Semua perlakuan dilakukan secara per oral selama satu kali siklus estrus, dimulai pada saat berlangsungnya fase estrus. Penyeragaman saat fase estrus dilakukan dengan metode Whitten Effect dengan cara meletakkan kandang tikus jantan diatas kandang tikus betina(Saraswati, 2015)..

Tahap Penelitian

Tahap penelitian dilakukan terhadap lama siklus estrus, vaskularisasi ovarium dan uterus dan bobot ovarium dan uterus pada fase estrus (Setiawan,2010).

# Lama Siklus Estrus

Pengamatan siklus estrus dilakukan setiap 3 jam setelah terjadinya estrus hingga

estrus berikutnya dengan mengamati sel-sel yang ditemukan dalam apusan vagina secara mikroskopik. Pengamatan dilakukan selama 12 jam berdasarkan hasil penelitian bahwa pemberian daun kemangi dapat memperpanjang siklus estrus. Pengamatan fasse di dalam siklus estrus yaitu proestrus, estrus, metestrus dan diestrus dilakukan dengan pemeriksaan preparat ulas vagina kemudian diamati dengan mikroskop pembesaran 10x. Preparat apus vagina disiapkan dengan mengulaskan kapas (*cutton bud*) yang telah dibasahi dengan saline guna menghindari terjadinya iritasi ke dalam lubang vagina tikus kemudian diulaskan pada gelas objek. Sampel yang diperoleh kemudian difiksasi menggunakan metanol 10% selama 5 menit. Setelah itu preparat ulas diwarnai dengan pewarna Giemsa selama 30 menit, kemudian dicuci dengan akuades dan dikeringkan. Warna yang dihasilkan merah dadu.

# Vaskularisasi Ovarium Dan Uterus Pada Fase Estrus

Pengamatan vaskularisasi ovarium dan uterus pada tikus betina dilakukan dengan cara mematikan tikus dengan eter pada saat tikus mengalami masa estrus, lalu dibedah untuk dikeluarkan ovarium dan uterusnya, setelah itu dilihat warna mukosa pada ovarium dan uterus tikus. Penilaian dan pengamatan vaskularisasi dinyatakan dengan skoring, sesuai dengan modifikasi metode.

# Pengukuran Bobot Ovarium dan Uterus Pada Fase Estrus

Koleksi ovarium dan uterus dilakukan terlebih dahulu setelah pengamatan vaskularisasi, setelah itu dilakukan penimbangan bobot ovarium dan uterus. kemudian dilakukan penimbangan bobot ovarium dan uterus

# Rancangan Penelitian

Pengaruh estrogenik dari ekstrak etanol 96% Beras Ketan Hitam pada tikus putih betina dapat dilihat dari hasil penggunaan uji statistik Rancangan Acak Lengkap(RAL) dengan lima perlakuan dan enam ulangan. Apabila uji F menunjukkan pengaruh yang nyata dimana nilai Fh>0,05, maka untuk melihat adanya perbedaan antar perlakuan, dilakukan uji lanjut menggunakan Uji Duncan. Sidik ragam untuk Rancangan Acak Lengkap disajikan pada Tabel.

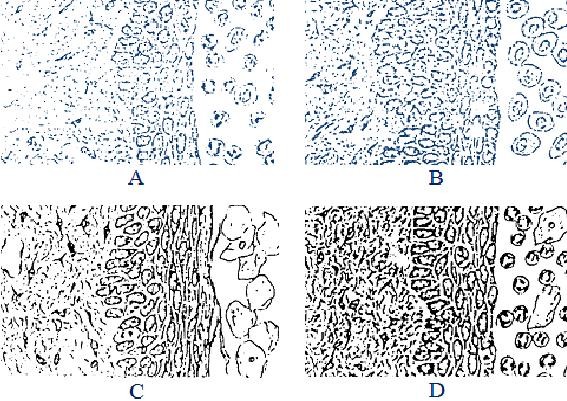
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

1. Epitel vagina selama siklus estrus

**Tabel 1.**

**Perubahan pada epitel vagina selama siklus estrus**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Fase siklus estrus | Lama fase (jam) | Gambaran ulas vagina dari berbagai sumber | | | |
| Dalal et al.  (2001) | Smith &  Mangkoewidjojo (1988) | Nalbandov (1999) | Syahrum,  et.al. (1994) |
| Proestrus | 12 | Sel epitel, leukosit sangat  sedikit | Sel epitel berinti | Sel epitel berinti | Sel epitel berinti, leukosit sedikit |
| Estrus | 12 | Sel tanduk makin banyak | Selepitel mengalami  penandukan | Sel berkornifikasi | Sel epitel bertanduk banyak |
| Metestrus | 12 | Sel tanduk,  leukositlebih banyak | Sel epitel  berkornifikasi, terdapatleukosit | Sel  berkornifikasi diantaraleukosit | Sel epitel  bertanduk, leukosit lebih banyak |
| Diestrus | 65 | Leukosit dan sel  epitel berinti | Leukosit dan sel  Epitel | Sel epitel berinti  dan leukosit | Sel epitel berinti  dan leukosit |

1. Keterangan Gambar

Gambar 2.

Tampilan skematis apusan vagina pada daurestrus

1. Diestrus, (B) Proestrus, (C) Estrus, (D)Metestrus (Bognara & Donnel, 1988)

(Gambar dan Tabel dibuat hitam putih, diletakkan dalam tulisan dan di atur agar menempati posisi yang sesuai sehingga reviewer dan pembaca dapat dengan mudah melihat hubungan antara konteks tulisan dan gambar maupun tabel)

**KESIMPULAN**

1. Pengaturan hormonal pada siklus estrus

GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) merupakan hormon yang disintesis di hipotalamus dan disekresikan ke hipofisis anterior melalui vena porta hipotalamo-hipofisis. Hipofisis anterior tidak mempunyai serabut saraf. untuk Pelepasan hormon-hormonnya dirangsang oleh faktor-faktor hormonal melalui pembuluh darah. GnRH ini akan mempengaruhi sekresi FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luitinizing Hormone*) dari hipofisis anterior. FSH dan LH akan merangsang ovarium untuk mensekresikan hormon estrogen dan progesteron yang akan mempengaruhi siklus estrus.

Pada fase proestrus folikel-folikel ovarium masih dalam ukuran kecil. Adanya FSH yang disintesis di hipofisa anterior menyebabkan sel- sel granulose yang terdapat didalam folikel akan cepat menjadi banyak. Kemudian akan terbentuk ruangan dalam folikel. Folikel ini disebut folikel de Graaf. Pada sel-sel granulose di dalam folikel de Graaf akan dihasilkan estrogen.

Estrogen berperan untuk merangsang pertumbuhan epitel vagina dan folikel ovarium sehingga menjadi matang dan siap untuk ovulasi. Folikel yang matang akan terus memproduksi estrogen, akibatnya estrogen dalam darah menjadi tinggi. Kadar estrogen yang tinggi dalam darah menandakan mencit sedang dalam fase estrus dan estrogen ini akan merangsang GnRH untuk memproduksi LH.

Pada tahap berikutnya akibat terus dihasilkannya LH akan terjadi lonjakan LH yang penting untuk terjadinya ovulasi setelah oosit II ke luar, maka folikel berubah menjadi korpus luteum yang mampu menghasilkan progesteron.

Progesteron menyebabkan perubahan-perubahan endometrium berupa perubahan lapisan endometrium. Lapisan endometrium ini dipersiapkan untuk terjadinya implantasi. Fase pembentukkan lapisan ini terjadi pada fase metestrus.

# Siklus Reproduksi

Pada beberapa mamalia siklus reproduksi disebut juga sebagai siklus estrus. Estrus atau birahi adalah suatu periode secara psikologis maupun fisiologis yang bersedia menerima pejantan untuk berkopulasi. Periode atau masa dari permulaan periode birahi ke periode birahi berikutnya disebut dengan siklus estrus.

Siklus estrus adalah siklus seksual pada mamalia bukan primata yang tidak menstruasi. Siklus estrus merupakan cerminan dari berbagai aktivitas yang saling berkaitan antara hipotalamus, hipofisis, dan ovarium. Selama siklus estrus terjadi berbagai perubahan baik pada organ reproduksi maupun pada perubahan tingkah lakuseksual.

Seperti telah disampaikan di muka, tikus dan mencit termasuk hewan poliestrus. Artinya, dalam periode satu tahun terjadi siklus reproduksi yang berulang-ulang. Daur estrus kedua jenis hewan ini dibedakan menjadi lima fase yaitu Proestrus, Estrus, Metestrus I, Metestrus II dan Diestrus. Siklus estrus mencit berlangsung 4-5 hari, sedangkan tikus satu siklus bisa selesai dalam 6 hari. Meskipun pemilihan waktu siklus dapat dipengaruhi oleh faktor- faktor eksteroseptif seperti cahaya, suhu, status nutrisi dan hubungansosial.

Setiap fase dari daur estrus dapat dikenali melalui pemeriksaan apus vagina. Apus vagina merupakan cara yang sampai kini dianggap relatif paling mudah dan murah untuk mempelajari kegiatan fungsional ovarium. Melalui apus vagina dapat dipelajari berbagai tingkat diferensiasi sel epitel vagina yang secara tidak langsung mencerminkan perubahan fungsional ovarium. Siklus secara kasar dapat dibagi menjadi empat stadium sebagai berikut:

1. Faseproestrus

Proestrus adalah fase sebelum estrus yaitu periode dimana folikel ovarium tumbuh menjadi folikel de graaf dibawah pengaruhFSH. Fase ini berlangsung 12 jam. Setiap folikel mengalami pertumbuhan yang cepat selama 2-3 hari sebelum estrus sistem reproduksi memulai persiapan-persiapan untuk pelepasan ovum dari ovarium. Akibatnya sekresi estrogen dalam darah semakin meningkat sehingga akan menimbulkan perubahan-perubahan fisiologis dan saraf, disertai kelakuan birahi pada hewan-hewan betina peliharaan. Perubahan fisiologis tersebut meliputi pertumbuhan folikel, meningkatnya pertumbuhan endometrium, uteri dan serviks serta peningkatan vaskularisasi dan keratinisasi epitel vagina pada beberapa spesies. Preparat apus vagina pada fase proestrus ditandai akan tampak jumlah sel epitel berinti dan sel darah putih berkurang, digantikan dengan sel epitel bertanduk, dan terdapat lendir yang banyak.

1. Faseestrus

Estrus adalah fase yang ditandai oleh penerimaan pejantan oleh hewan betina untuk berkopulasi, fase ini berlangsung selama 12 jam. Folikel *de graaf* membesar dan menjadi matang serta ovum mengalami perubahan-perubahan kearah pematangan. Pada fase ini pengaruh kadar estrogen meningkat sehingga aktivitas hewan menjadi tinggi, telinganya selalu bergerak-gerak dan punggung lordosis. Ovulasi hanya terjadi pada fase ini dan terjadi menjelang akhir siklus estrus. Pada preparat apus vagina ditandai dengan menghilangnya leukosit dan epitel berinti, yang ada hanya epitel bertanduk dengan bentuk tidak beraturan dan berukuran besar.

1. Fasemetestrus

Metestrus adalah periode segera sesudah estrus di mana corpus luteum bertumbuh cepat dari sel granulose folikel yang telah pecah di bawah pengaruh LH dan adenohypophysa. Metestrus sebagian besar berada di bawah pengaruh progesteron yang dihasilkan oleh corpus luteum. Progesteron menghambat sekresi FSH oleh adenohypophysa sehingga menghambat pembentukan folikel de Graaf yang lain dan mencegah terjadinya estrus. Selama metestrus uterus mengadakanpersiapan-persiapan seperlunya untuk menerima dan memberi makan pada embrio. Menjelang pertengahan sampai akhir metestrus, uterus menjadi agak lunak karena pengendoran otot uterus. Fase ini berlangsung selama 21 jam. Pada preparat apus vagina ciri yang tampak yaitu epitel berinti dan leukosit terlihat lagi dan jumlah epitel menanduk makin lama makin sedikit.

1. Fasediestrus

Diestrus adalah periode terakhir dan terlama siklus birahi pada ternak-ternak dan mamalia. Fase ini berlangsung selama 48 jam. Korpus luteum menjadi matang dan pengaruh progesteron terhadap saluran reproduksi menjadi nyata. Endometrium lebih menebal dan kelenjar-kelenjar berhypertrophy. Serviks menutup dan lendir vagina mulai kabur dan lengket. Selaput mukosa vagina pucat dan otot uterus mengendor. Pada akhir periode ini corpus luteum memperlihatkan perubahan-perubahan retrogresif dan vakualisasi secara gradual. Endometrium dan kelenjar-kelenjarnya beratrofi atau beregresi ke ukuran semula. Mulai terjadi perkembangan folikel-folikel primer dan sekunder dan akhirnya kembali ke proestrus. Pada preparat apus vagina dijumpai banyak sel darah putih dan epitel berinti yang letaknya tersebar danhomogen.

# Beras Hitam

1. Tabel 2.
2. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 96% beras hitam.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Sampel | Kandungan Lain | Alkaloid | Tanin |
| HCl p + Mg | Reagen Mayer | Gelatin 1% |
| 1 | + fenol | + | + |
| 2 | + fenol | + | + |
| 3 | + fenol | + | + |
| 4 | + fenol | + | + |
| 5 | + fenol | + | + |
| 6 | + fenol | + | + |
| 7 | + fenol | + | + |

Beras hitam yang berasal dari tujuh tempat berbeda di Kalimantan Selatan dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% untuk menjadi ekstrak etanol Beras Ketan Hitam. Hasil ekstraksi kemudian dilakukan identifikasi secara kualitatif muncul zat lain berupa kandungan flavonoid dengan HCl p + Mg, tanin dengan reagen mayer, dan alkaloid dengan menggunakan gelatin 1%, pada penelitian ini seluruh sampel menunjukkan hasil positif. Dapat dilihat pada Tabel 2. Kemudian dilanjutkan penetapan kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak etanol beras hitam menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh kadar fenolik total ekstrak etanol Beras Ketan Hitamyang paling tinggi adalah pada sampel 6 diperoleh kadar fenolik total etanol sebesar 112,47±1,040 mgGAE/gram ekstrak, artinya dalam setiap gram ekstrak etanol beras hitam terdapat fenolik yang setara dengan 112,47±1,040 asam galat. Senyawa fenolik yang terkandung dalam ekstrak beras hitam merupakan hasil metabolit sekunder yang potensial sebagai sumber bahan baku obat yang berperan sebagai antioksidan

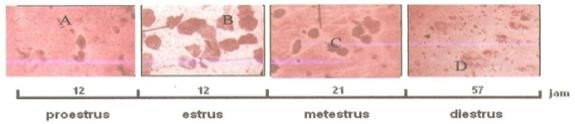
Pada penetapan kadar flavonoid, penambahan kalium asetat adalah untuk mendeteksi adanya gugus 7-hidroksil sedangkan perlakuan inkubasi selama 30 menit yang dilakukan sebelum pengukuran dimaksudkan agar reaksi berjalan sempurna, sehingga memberikan intensitas warna yang maksimal. Penetapan kandungan lain dari ekstrak etanol beras hitam dilakukan dengan replikasi 3x dan dilihat pada Tabel 3.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Tabel 3.  Hasil Penetapan Etanol Beras Hitam dengan Variasi Tujuh Sampel | | | | | |
| Sampel | Absorbansi | Konsentrasi (mg/ml) | % Kadar | % Kadar Rata-Rata | SD |
| 1 | 0,727 | 0,086 | 8,65 | 8,53 | 0,208 |
| 0,728 | 0,087 | 8,66 |
| 0,699 | 0,083 | 8,29 |
| 2 | 0,7 | 0,083 | 8,30 | 8,11 | 0,343 |
| 0,7 | 0,083 | 8,30 |
| 0,653 | 0,077 | 7,71 |
| 3 | 0,672 | 0,079 | 7,95 | 7,69 | 0,446 |
| 0,672 | 0,079 | 7,95 |
| 0,611 | 0,072 | 7,18 |
| 4 | 0,531 | 0,062 | 6,16 | 6,03 | 0,227 |
| 0,531 | 0,062 | 6,16 |
| 0,5 | 0,058 | 5,77 |
| 5 | 0,445 | 0,051 | 5,08 | 4,97 | 0,169 |
| 0,443 | 0,051 | 5,05 |
| 0,421 | 0,048 | 4,77 |
| 6 | 0,322 | 0,035 | 3,52 | 3,74 | 0,210 |
| 0,342 | 0,038 | 3,77 |
| 0,355 | 0,039 | 3,94 |
| 7 | 0,457 | 0,052 | 5,23 | 5,02 | 0,403 |
| 0,461 | 0,053 | 5,28 |
| 0,404 | 0,046 | 4,56 |

Berdasarkan hasil perhitungan tabel 3, maka ekstrak etanol Beras Ketan Hitam Hitam yang mencul kadar flavonoid total tertinggi adalah sampel 1 yaitu sebesar 8,53±0,208%. Dari hasil tersebut 7 sampel ekstrak etanol Beras Ketan Hitam dapat dinyatakan positif mengandung flavonoid, dimana flavonoid mempunyai banyak manfaat dibidang kesehatan diantaranya sebagai antioksidan, anti dermatosis, kemopreventif, anti kanker maupun antiviral. Sehingga ekstrak etanol beras hitam dapat dijadikan terapi tambahan dan pencegahan suatu penyakit dengan cara dibuat menjadi sedia anobat.

# Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 96% Beras Ketan Hitam Terhadap Lama Siklus Estrus

Estrus merupakan fase periode birahi. Lama estrus pada tikus 9-20 jam dan siklus estrus berlangsung selama empat sampai enam hari. Siklus estrus dibagi menjadi empat fase yaitu fase proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus. Hasil pengujian ekstrak terhadap lama siklus estrus dilakukan dengan mengamati sel-sel yang ditemukan dalam apusan vagina secara mikroskopik yang dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3**. Fase-fase Pada Siklus Reproduksi Tikus

1. Keterangan: A. Sel Epitel Berinti, B. Sel

Pada fase proestrus ditandai dengan sel epitel berinti banyak. Faseini menandakan akan datangnya birahi. Preparat apus vagina fase estrus ditandai dengan terbentuknya *cornified cell* (sel menanduk) sebagai gambaran banyaknya mitosis yang terjadi di dalam mukosa vagina. Menjelang estrus berakhir, lumen vagina membentuk sel-sel menanduk dengan inti berdegenerasi. Pada fase metestrus sel menanduk berkurang dan ovary mengandung korpus luteum yang mengandung sel-sel lutein dan folikel-folikel kecil yang tidak berinti. Fase diestrus didominasi olehsel leukosit dan mulai muncul sel epitel berinti.

Waktu siklus estrus ditampilkan pada Tabel 1 yang menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak etanol 96%Beras Ketan Hitamdengan konsentrasi terendah mengalami estrus selama 165 jam (mendekati 7 hari) sudah setara dengan kontrol positif dan konsentrasi tertinggi. Durasi total siklus estrus (proestrus, estrus, metaestrus dan diestrus) adalah 4-5 hari. Perlakuan kontrol negatif (CMC-Na1%) memberikan waktu siklus estrus yang paling pendek yaitu 107 jam dibandingkan ke empat kelompokperlakuanlainnya. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa CMC-Na 1%, etinil estradiol, ekstrak etanol 96 % Beras Ketan Hitam dosis 0,8g/200g BB; 1,6g/200g BB dan 3,2g/200g BB memberikan pengaruh yang sangat beda nyata terhadap peningkatan (lebih lamanya) waktu siklus estrus (P<0,01).

Hasil uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan menunjukkan bahwa, semua perlakuan pemberian ekstrak etanol 96% Beras Ketan Hitampengaruhnyasama dengan etinil estradiol 9×10-3 mg/200gBB sebagai kontrol positif terhadap memperpanjang siklus estrus pada tikus putih betina pre-menopause. Melalui pemberian dosis terendah yaitu 0,8g/200g BB pengaruhnya sudah setara dengan kontrol positif dengan perbedaan yang sangat nyata terhadap memperpanjang siklusestrus.Data pengukuran waktu siklus estrus dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1**. Waktu Siklus Estrus.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Jumlah Ulangan |  | Lamanya Siklus (jam)Perlakuan | | |  |
| P1 | P2 | P3 | P4 | P5 |
| 1 | 165 | 100 | 165 | 159 | 174 |
| 2 | 163 | 120 | 165 | 165 | 165 |
| 3 | 165 | 104 | 165 | 174 | 165 |
| 4 | 164 | 104 | 165 | 165 | 165 |
| Total | 657 | 428 | 660 | 663 | 669 |
| Rata-rata | 164.3a | 107a | 165ac | 165.75ac | 167.3ac |

Keterangan : Angka yang diikuti superkrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata (P>0.05).

Hasil pada pengujian ini menunjukkan bahwa dengan pemberian ekstrak herba kemangi meyebabkan terjadinya peningkatan hormon estrogen pada fase estrus sehingga cenderung akan memperpanjang siklus estrus.

**KESIMPULAN**

Perlakuan ekstrak etanol 96% Beras Ketan Hitam (*Oryza Sativa L*.) dapat meningkatkan aktivitas estrogenik tikus putih betina *(Rattus norvegicus)* pre- menopause. Pada dosis 0,8g/200g BB dapat memperpanjang siklus estrus, juga meningkatkan vaskularisasi dan meningkatkan bobot ovarium dibandingkan kontrol negatif (CMC-Na1%). Perlakuan dengan konsentrasi terendah sudah setara dengan kontrol positif etinil estradiol (9x10- 3mg/200g BB).

**DAFTAR PUSTAKA**

(Menggunakan APA style, Pustaka minimal mengunakan 80 % rujukan primer berupa jurnal, serta gunakan rujukan terbaru)

1. Mulyati E. H. M. (2015). Aktivitas Estrogenik Ekstrak Etanol 70% Herba Kemangi (Ocimumamericanuml.) Pada Tikus Putih Betina (Rattus Norvegicus) Pre-Menopause. *Fitofarmaka,Vol. 5, (1). 2087-9164. Institut Pertanian Bogor.*
2. Pengkumsri N. C. et al. (2015) Physicochemical and antioxidative properties of black, brown and red rice varieties of northern Thailand. *Food Science and Technology (Campinas). 35(2):331-8.*
3. Zanuar Abidin (2016). EfekEkstrakEtanolOryza sativa L. indicaterhadapAktivitas Protein Kinase B dan Kadar CA 15-3 Serum padaTikusSprague dawley Betina *Departemen Biokimia. FK Universitas Muhammadiyah Surabaya. DOI: 10.23886/ejki.4.6701.187-90.*
4. Suyanto, Agustinus (2006) Rodent Di Jawa , LIPI Seri panduan Lapangan, Pusat Penelitian Biologi. *Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor.*
5. Nowak, Ronald M (1999). Walker's Mammals Of The World, 6th ed, vol I and II. *The John Hopkins University Press, Baltimore and London.*
6. Suyanto, A., M. Yoneda, I. Maryanto, Maharadatunkamsi dan J. Sugardjito (2003). Checklist Of The Mamals Of Indonesia. *2nd Ed, LIPI-JICA, Bogor.*
7. R i s t i y a n t o , M o d u l P e l a t i h a n Rodensia (2007). *B2P2VRP Salatiga.*
8. Yomade S, Karrila T, Pakdeechanuan P (2011). Physical, Chemical and Antioxidant Properties of Pigmented Rice Grown in Southern Thailand. *International Food Research Journal. 901-6*
9. 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. Institut Pertanian Bogor.*
10. Nafisah, M., Tukiran, Suyatno, Hidayati, N. (2014). Phytochemical Screening Test On hexan, Chloroform and Methanol Extracts of Patikan Kebo (Euphorbiae hirtae), *Prosiding Seminar Nasional Kimia, hal.279-286.*
11. Saraswati, F.N. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Limbah Kulit Pisang Kepok Kuning (Musa balbisiana) Terhadap Bakteri Penyebab Jerawat (Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, dan Propionibacterium acne), *Skripsi, UIN Syarif Hidayatullah , Jakarta.*
12. Triyasmono Liling, Cahaya Noor, Sari Yuniar Novita (2015). Aplikasi Ftir Dan Kemometrika Plsr (Partial Least Square Regression) Pada Prediksi Kadar Flavonoid Total Bungur (Lagerstroemia Speciosa Pers.) Khas Kalimantan. Prosiding Seminar Nasional & Workshop “Perkembangan Terkini Sains Farmasi & Klinik 5”FMIPA, *Universitas Lambung Mangkurat, Padang.*
13. Puspitasari, L., Swastini, D.A., Arisanti, C.I.A. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.), Jurnal Farmasi Udayana, hal 1-5.
14. Yomade S, Karrila T, Pakdeechanuan P. (2011) Physical, Chemical and Antioxidant Properties of Pigmented Rice Grown in Southern Thailand. *International Food Research Journal. 901-6*