

# EFEK ESTROGENIK EKSTRAK DAUN HANDEULEUM {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff} PADA HISTOLOGI UTERUS MENCIT BETINA OVARIIEKTOMI

Listijani Suhargo

Jurusan Biologi FMIPA Universitas airangga

## ABSTRACT

*Estrogenic effects of handeuleum leaf {Graptophyllum pictum (L.) Griff} were showed by uterus histology examinations of ovariectomy female mice. Female mice aged 3 months, were treated by gavage with handeuleum leaf extracts, ethinyl estradiol, aquadest, and olive oil. The results showed that the treatment of handeuleum leaf extracts (with concentration 0.5 mg/0.05 ml olive oil) could increase uterus diameter, mucous layer thickness, lumen epithelial cell height, and glandular epithelial cell height if it was compared with aquadest treatments. Compared with ethinyl estradiol as standard estrogen, handeuleum leaf extracts have lower effects than ethinyl estradiol.*

**Key words:** *estrogen, uterus, ovariectomy*

## PENGANTAR

Pada akhir masa reproduksi, wanita mengalami menopause. Wanita mempunyai jumlah sel telur yang sudah ditentukan sejak lahir. Pada saat menopause, cadangan sel telur dalam ovarium sudah tidak ada, akibatnya sintesis hormon estrogen oleh folikel-folikel juga tidak berlangsung. Keadaan ini mulai berlangsung antara umur 45 tahun hingga 55 tahun. Penurunan kadar estrogen dalam darah berpengaruh pada saluran-saluran reproduksi, antara lain pada uterus (Hafez, 1970). Dalam kondisi normal estrogen menyebabkan pertumbuhan endometrium (lapisan mukosa). Estrogen merangsang pertumbuhan sel epitel dan pertumbuhan kelenjar dalam lapisan itu (Mutschler, 1991) dan menyebabkan pertumbuhan jaringan otot uterus, terutama menyebabkan hipertrofi sel ototnya. Hal ini jelas terjadi pada saat masa subur (estrus) (Walter dan Israel, 1987). Penurunan estrogen menimbulkan keluhan fisik seperti keluarnya keringat, suhu tubuh meningkat, pendarahan tidak teratur, dan osteoporosis, serta keluhan psikis seperti gugup, insomnia, sakit kepala, dan depresi. Selama ini digunakan pengobatan dengan estrogen sintetis antara lain dengan *ethinyl estradiol*. Penggunaan estrogen sintetis dalam jangka waktu lama dapat menimbulkan hiperplasia dan karsinoma pada uterus (Arnold, 1992). Karena itu dilakukan penelitian untuk mencari bahan alami yang bersifat estrogenik. Salah satu bahan tanaman yang diteliti adalah daun handeuleum {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff}. Daun handeuleum diketahui mengandung beberapa senyawa steroid, di samping bahan-bahan lain seperti alkaloid dan tanin (Hakim dan Soedigdo, 1983).

Dalam penelitian ini permasalahan yang ingin dijawab adalah apakah ekstrak daun handeuleum {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff} mempunyai aktivitas estrogenik pada uterus mencit betina ovariektomi? dan bagaimana perbandingan efek estrogenik ekstrak daun handeuleum dengan ethinyl estradiol sebagai estrogen standar?

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan berupa ekstrak daun handeuleum {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff}, *lynoral* (yang mengandung *ethinyl estradiol*), minyak zaitun, akuades dan mencit betina ovariektomi. Alat-alat yang digunakan berupa peralatan untuk ekstrak daun, ovariektomi dan pembuatan preparat histologi.

### Cara Kerja

#### **Pembuatan ekstrak daun handeuleum**

Untuk pembuatan ekstrak daun handeuleum digunakan pelarut Hexan dengan tujuan untuk menarik senyawa steroid sebanyak-banyaknya. Daun handeuleum dikeringkan dan dihaluskan. Kemudian serbuk daun direndam dengan Hexan dan dilakukan evaporasi untuk melepaskan Hexan, sehingga yang tertinggal adalah kandungan kimia daun handeuleum, terutama adalah senyawa steroid (Hakim dan Soedigdo, 1983)

#### **Ovariektomi pada mencit betina**

Ovariektomi adalah pengambilan ovarium melalui pembedahan. Dalam penelitian ini dilakukan ovariektomi

pada mencit betina. Hewan dibius dan dilakukan irisan pada garis tengah perut bawah, kira-kira sepanjang 1 cm, ovarium diambil, dan selanjutnya irisan-irisan (peritonium, otot, dan kulit) dijahit dan diberikan betadine maupun antibiotik (Knecht, 1987).

### Perlakuan hewan uji

Perlakuan hewan uji meliputi perlakuan dengan ekstrak daun handeuleum dengan konsentrasi 0,1 mg; 0,5 mg; dan 1 mg yang dilarutkan dalam minyak zaitun 0,05 ml (untuk P1, P2, dan P3), dengan larutan ethinyl estradiol 0,06 mg (Papadaki, dkk. 1979) dalam 0,05 ml minyak zaitun (K1); 0,05 ml akuades (K2); dan 0,05 ml minyak zaitun (K3). Di samping itu juga digunakan mencit betina yang tidak ovariektomi sebagai kontrol normal (kondisi estrus/KE dan kondisi diestrus/KD), dan mereka diberi perlakuan dengan akuades 0,05 ml. Perlakuan diberikan setiap hari secara gavage selama 8 minggu. Perlakuan didahului dengan penimbangan hewan uji.

### Pembuatan preparat dan penentuan aktivitas estrogenik

Pada akhir perlakuan dilakukan penimbangan hewan uji, kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil uterusnya. Selanjutnya dibuat preparat uterus dengan bahan fiksatif berupa larutan Bouins dan pewarnaan dengan Hematoxylin dan eosin (Humason, 1967). Uterus diiris secara melintang. Selanjutnya preparat uterus diamati dengan mikroskop dan dilakukan pengukuran dengan mikrometer untuk mengukur tebal lapisan mukosa, tebal lapisan otot, panjang sel epitel rongga dan kelenjar. Hasil

perlakuan dengan ekstrak daun handeuleum dibandingkan dengan hasil perlakuan dengan ethinyl estradiol (estrogen sintetik) untuk mengetahui besarnya tingkat efek estrogenik ekstrak daun handeuleum.

### HASIL

Histologi uterus yang diamati meliputi pengukuran diameter, tebal lapisan mukosa, tebal lapisan otot sirkuler, panjang sel epitel rongga dan panjang sel epitel kelenjar. Semua hasil pengukuran tertera pada Tabel 1 berikut ini.

### PEMBAHASAN

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada semua perlakuan, dan selanjutnya hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak daun handeuleum (pada konsentrasi 0,5 mg/0,05 ml minyak zaitun/P2) bila dibandingkan dengan perlakuan akuades (K3) berbeda signifikan dalam hal diameter, tebal lapisan mukosa, panjang sel epitel rongga dan kelenjar uterus, tetapi tidak berbeda signifikan dalam hal tebal lapisan otot sirkuler uterus.

Ovariektomi menyebabkan penurunan hormon estrogen. Setelah ovariektomi, estrogen yang beredar dalam darah berasal dari hasil sintesis estrogen dari jaringan perifer (lemak dan otot) (Wilson dan Foster, 1992). Jenis estrogen yang disintesis di jaringan tersebut adalah estron yang mempunyai efek estrogenik lebih rendah dibandingkan estradiol yang disintesis oleh ovarium. Estrogen mencapai sel target (saluran reproduksi) dengan

**Tabel 1.** Data hasil pengukuran uterus (diameter, tebal lapisan mukosa, tebal lapisan otot, panjang sel epitel rongga dan panjang sel epitel kelenjar)

P	Uterus (n = 4)				
	Rerata Diameter ( $\mu\text{m}$ )	Rerata Tebal Lapisan otot sirkuler ( $\mu\text{m}$ )	Rerata Tebal Lapisan otot sirkuler ( $\mu\text{m}$ )	Panjang sel Epitel rongga ( $\mu\text{m}$ )	Panjang sel epitel kelenjar ( $\mu\text{m}$ )
P1	5,332 a	1,367 a	0,335 a	0,0817 a	0,075 a
P2	7,896 b	1,996 b	0,432 a	0,1230 bg	0,086 b
P3	5,796 a	1,463 a	0,324 a	0,1135 cg	0,079 a
K1	14,197 c	3,455 c	1,019 b	0,1418 db	0,112 c
K2	6,403 ab	1,817 ab	0,457 a	0,0945 ac	0,079 a
K3	5,373 a	1,433 a	0,325 a	0,0865 a	0,063 d
KE	22,056 d	6,341 d	1,032 b	0,2030 e	0,125 e
KD	14,362	3,650 c	0,613 c	0,1580 fd	0,102 f

Keterangan:

P : Perlakuan

P1 : Ekstrak daun handeuleum 0,1 mg/0,05 ml minyak zaitun

P2 : Ekstrak daun handeuleum 0,5 mg/0,05 ml minyak zaitun

P3 : Ekstrak daun handeuleum 1 mg/0,05 ml minyak zaitun

K1 : Ethinyl estradiol 0,06 mg/0,05 ml minyak zaitun

K2 : 0,05 ml minyak zaitun

K3 : 0,05 ml akuades

KE : 0,05 ml air (Kondisi normal, fase estrus)

KD : 0,05 ml air (Kondisi normal, fase diestrus)

Notasi huruf yang tidak sama menunjukkan ada perbedaan signifikan

bantuan protein karier (albumin dan globulin) dan setelah mencapai sel target, estrogen masuk ke dalam sel dan diterima oleh protein reseptor. Jadi peranan protein sangat penting untuk transportasi estrogen (DeGroot, 1995). Daun handeuleum yang digunakan diekstraksi dengan pelarut Hexan. Menurut hasil penelitian Hakim dan Soedigdo (1983), diketahui bahwa daun handeuleum yang diekstraksi dengan Hexan, maka hasil ekstraksinya terutama mengandung steroid. Steroid sangat berperan untuk sintesis protein (Mountcastle, 1980). Jadi pengaruh ekstrak daun handeuleum dianggap meningkatkan sintesis protein karier dan protein reseptor. Tetapi karena yang ditransportasikan adalah estron, maka pengaruhnya terhadap pertumbuhan jaringan-jaringan pada uterus sangat sedikit. Oleh karena itu, bila P2 dibandingkan dengan K3, maka selisih perbedaannya tidak terlalu besar.

Ekstrak daun handeuleum tidak larut dalam air tetapi larut dalam minyak karena kandungannya yang bersifat polar. Pelarut yang digunakan adalah minyak zaitun, karena minyak tersebut mengandung asam lemak yang diketahui mudah dicerna (Wolk *et al.*, 1998). Pada hasil uji BNT antara K3 (kontrol akuades) dengan K2 (kontrol minyak zaitun) menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan pada semua pengukuran, kecuali pada panjang sel epitel kelenjar uterus, K2 menunjukkan hasil yang sedikit lebih rendah. Minyak zaitun berperan sebagai pelarut ekstrak daun handeuleum, dan karena sifatnya yang mudah dicerna, maka minyak zaitun dapat meningkatkan daya serap kandungan ekstrak tersebut dalam sistem pencernaan dan selanjutnya akan mempercepat transportasi steroid (kandungan ekstrak daun handeuleum) menuju ke uterus sebagai salah satu organ target.

Bila P2 dibandingkan dengan K1 (perlakuan dengan ethinyl estradiol sebagai estrogen standar), maka semua pengukuran jaringan uterus berbeda signifikan, kecuali pada panjang sel epitel rongga. Perlakuan dengan ethinyl estradiol menunjukkan peningkatan ukuran yang lebih besar dibandingkan perlakuan dengan ekstrak daun handeuleum.

Ethinyl estradiol digunakan sebagai estrogen standar untuk mengukur efek estrogenik suatu bahan alam. Ethinyl estradiol mempunyai efek seperti estradiol yang dihasilkan oleh ovarium, yaitu menyebabkan proliferasi sel uterus (Suzuki, *et al.* 1996), sehingga hasil pengukuran menunjukkan peningkatan diameter, tebal lapisan mukosa (terdiri selapis sel-sel epitel, jaringan ikat, kelenjar, pembuluh darah), tebal lapisan otot, panjang sel epitel rongga dan kelenjar uterus yang lebih besar bila dibandingkan dengan perlakuan dengan ekstrak daun

handeuleum. Ethinyl estradiol mempunyai potensi 500 kali lebih besar dibandingkan estron (Mutschler, 1991). Hasil penelitian pada diameter uterus menunjukkan bahwa efek ethinyl estradiol hampir sama dengan efek estradiol pada kondisi normal fase diestrus (pada hewan yang tidak diovariektomi).

Dari hasil penelitian dan pembahasan dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun handeuleum {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.} pada konsentrasi 0,5 mg/0,05 ml minyak zaitun (P2) mempunyai efek estrogenik yang paling baik pada uterus dibandingkan P1 dan P3, yang ditunjukkan dengan peningkatan diameter, tebal lapisan mukosa, panjang sel epitel rongga dan kelenjar, tetapi tidak meningkatkan tebal lapisan otot sirkuler. Efek estrogenik ekstrak daun handeuleum lebih rendah bila dibandingkan efek estrogenik dari ethinyl estradiol.

Saran yang dapat diajukan adalah perlu diteliti lebih lanjut mengenai efek estrogenik ekstrak daun handeuleum dengan melalui imunohistokimia, pemeriksaan protein, dan pemeriksaan *in vitro* dengan kultur sel, untuk lebih memperjelas peranan ekstrak daun handeuleum sebelum digunakan untuk terapi pada wanita dengan defisiensi estrogen.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada DP3M sebagai penyandang dana, kepada Bapak I.B. Rai Pidada, M.Si. dan Ibu Dra. Dwi Winarni, M.Si. atas peran serta dalam penelitian ini, dan juga kepada Saudara Fahmi dan Ernawati yang membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arnold E, 1992. *Muir's Textbook of Pathology*. 13<sup>rd</sup> ed. Great Britain, 1021–1022.
- DeGroot LJ, 1995. *Endocrinology*. Vol. 3. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2019–2137.
- Hakim A, dan Soedigdo S, 1983. Penyelidikan Tentang Komponen Steroida dari Daun Handeuleum/wungu: *Graptophyllum pictum* (L) Griff. *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III*. Fakultas Farmasi. UGM. Yogyakarta.
- Humason GL, 1967. *Animal Tissue Techniques*. W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Hafez ESE, 1970. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. Lea & Febiger, Philadelphia, 299.
- Knecht CD, 1987. *Fundamental Techniques in Veterinary Surgery*, 3<sup>rd</sup> ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Mutschler Ernst, 1991. *Dinamika Obat*. Penerbit ITB, Bandung, 368–370.

- Mountcastle VB, 1980. *Medical Physiology*. Volume II, 14<sup>th</sup>. ed The C.V. Mosby Company, St. Louis, 1464–1465.
- Papadaki L, Beilby OW, Chowanec J, Coulson WF, Darby AJ, Newman J, O'Shea AO, dan Wykes JR, 1979. Hormone Replacement Therapy in The Menopause: A Suitable Animal Model. *Journal of Endocrinology*, Great Britain, 67–77.
- Suzuki A, Enari M, Abe Y, Ohta Y, Iguchi T, 1996. Effect of Ovariectomy on Histological Change and Protein Expression in Female Mouse Reproductive Tracts. *In Vivo*, Jan-Feb; 10(1): 103–10
- Wilson JD, dan Foster W, 1992. *Williams Textbook of Endocrinology*. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 748.
- Walter JB, dan Israel MS, 1987. *General Pathology*, 6<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone Inc., New York, 321, 324.
- Wolk, Alicja, *et al.* 1998. A Prospective Study of Association of Monounsaturated Fat and Other Types of Fat With Risk of Breast Cancer. *Archives of Internal Medicine*. 158: 41–45.

Reviewer: **Drs. Win Darmanto, MSi., Ph.D.**