

Pemberian Ekstrak Etanol Akar Purwoceng pada Tikus Bunting Selama Masa Organogenesis Memperpanjang Ukuran Tulang Anak Tikus

(ADMINISTRATION ROOTS ETHANOL EXTRACT OF PAMPINELLA ALPINA TO PREGNANT RATS DURING ORGANOGENESIS EXTENDS THE BONE OF THEIR PUPS)

Aryani Sismin Satyaningtjas¹, Pudji Achmadi¹, Hera Maheshwari¹, Isdoni Bustaman¹, Dirwan Rahman², Muhammad Zhaahir²,

¹Bagian Fisiologi, Departemen Anatomi, Fisiologi, dan Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

²Mahasiswa Program Sarjana FKH-IPB

Jl. Agatis. Kampus IPB Dramaga. Bogor. Indonesia

Telp : (0252) 629469; 629470; 629471.

E-mail: niekesis@yahoo.co.id

Abstrak

Sistem sirkulasi pada kebuntingan merupakan satu kesatuan sirkulasi antara anak dan induk. Pertumbuhan dan perkembangan anak sangat ditentukan oleh asupan pakan induk. Penelitian ini dilakukan untuk melihat perkembangan tulang anak-anak tikus turunan dari induk yang diberikan ekstrak etanol akar purwoceng (*pimpinella alpine*) selama 1-13 hari kebuntingan. Sebanyak delapan ekor tikus bunting dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol yang tidak mendapatkan purwoceng dan kelompok purwoceng yang diberikan ekstrak etanol purwoceng dengan dosis 25 mg/300 g bb. Anak-anak yang lahir selanjutnya diamati dan diukur pertumbuhan tulang kepala, tulang punggung, tulang kaki depan, dan tulang kaki belakang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa anak tikus betina pada semua parameter tulang selama 70 hari pengukuran, teramati lebih panjang pada kelompok purwoceng dibandingkan dengan kontrol, kecuali kaki depan, sedangkan anak tikus jantan tidak berbeda antara kelompok purwoceng dengan kontrol kecuali tulang punggung dan tulang kaki belakang. Penelitian ini menyimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol akar purwoceng pada tikus bunting selama masa organogenesis dapat menambah ukuran panjang tulang anak turunannya.

Kata-kata kunci: ekstrak etanol akar purwoceng (*Pimpinella alpine*), tikus, tulang

Abstract

Pregnancy is an integral part of the circulatory system between pups and mother. Growth and development of pups is determined by intake from their mother. The purpose of this study was to measure the growth of pup's bones given ethanol extract *purwoceng* (*Pimpinella alpine*) for 1 to 13 days of rat gestation. Eight pregnant rats were divided into two groups: control group and *purwoceng* group that was given ethanol extract *purwoceng* at a dose of 25 mg/300 g bw. The born pups were observed for 70 days to measure the growth and development of head bone, back bone, front legs bone, and hind legs. The results showed that the growth and development of all bones parameters of female pups were higher on *purwoceng* group than control the bone while male pups did not difference between *purwoceng* and control group except back bone and hind leg bone. The conclusion of this study is that administration of *purwoceng* roots ethanol extract on pregnant rats during organogenesis phase can extends the bone length of their pups.

Key words: *purwoceng* (*Pimpinella alpine*), roots ethanol extract, rats, bones.

PENDAHULUAN

Purwoceng (*Pampinella alpina*) merupakan tanaman komersial yang dilaporkan bahwa semua bagiannya (batang, daun, dan akar) berkhasiat sebagai obat. Tanaman ini merupakan endemik Indonesia yang hidup di daerah pegunungan seperti dataran tinggi di Jawa Tengah, Jawa Barat, dan Jawa Timur. Masyarakat Jawa sering menggunakan tanaman ini sebagai afrodisiak (meningkatkan gairah seksual dan menimbulkan ereksi), diuretik (melancarkan saluran air seni), dan mampu meningkatkan stamina tubuh (Ajijah *et al.*, 2010). Rahardjo (2003) melaporkan bahwa tanaman ini memiliki kandungan bahan-bahan atsiri dan kelompok steroid yang berkhasiat bagi tubuh.

Akar purwoceng berkhasiat memperbaiki kinerja reproduksi tikus jantan dengan meningkatkan kadar *luteinizing hormone* dan testosteron (Nasihun, 2009). Ekstrak akar purwoceng (EAP) yang diberikan pada tikus bunting selama 1-13 hari cenderung meningkatkan bobot badan, bobot ovarium, dan bobot uterus serta keberhasilan titik implantasi yang lebih baik (Satyaningtjas *et al.*, 2014). Penelitian sebelumnya tersebut melaporkan bahwa EAP dapat meningkatkan kinerja reproduksi pada betina bunting dengan cara memperbaiki lingkungan mikrouterusnya. Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka dapat dibuat hipotesis bahwa EAP dapat meningkatkan pertumbuhan tulang anak keturunannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati perkembangan tulang anak tikus jantan dan betina keturunan induk yang diberi EAP selama masa organogenesis yang terjadi pada hari 1-13 kebuntingan. Manfaat penelitian ini adalah untuk memberi sumbangan informasi tentang khasiat EAP terhadap perkembangan tulang anak tikus jantan dan betina dari induk yang diberikan EAP selama masa organogenesis.

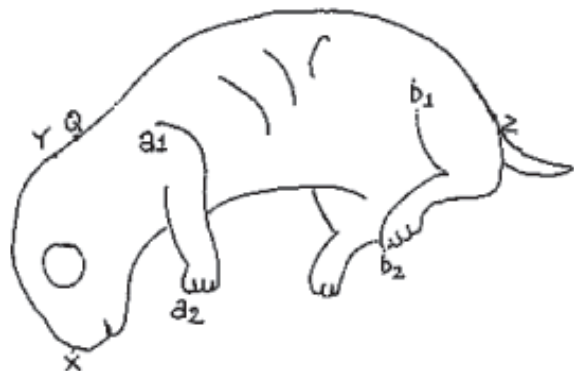
METODE PENELITIAN

Sebanyak 12 ekor tikus putih betina dewasa kelamin galur *Sprague Dawley* dikawinkan secara alami dengan rasio satu ekor jantan : satu ekor betina dalam satu kandang. Tikus dinyatakan telah melakukan perkawinan bila pada preparat ulas vagina ditemukan adanya spermatozoa. Ketika spermatozoa ditemukan tersebut pada umumnya tikus menjadi bunting.

Kebuntingan hari pertama diindikasikan dengan adanya spermatozoa pada preparat ulas vagina. Bobot badan awal tikus-tikus tersebut antara 150-190 gram. Tikus bunting dipelihara dalam kandang individu yang terbuat dari plastik berukuran 30×20×20 cm dan dilengkapi dengan jaring kawat ayam sebagai penutup pada bagian atasnya serta diberikan pakan berupa pelet dua kali sehari dan air minum *ad libitum*. Penggantian sekam alas kandang dan pembersihan kandang plastik dilakukan setiap empat hari. Tikus-tikus bunting tersebut dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok tikus yang diberi air (kontrol) dan yang diberi ekstrak akar purwoceng (EAP). Pemberian air dan EAP dilakukan setiap hari secara oral dengan menggunakan sonde lambung, mulai hari pertama hingga hari ke-13 kebuntingan. Sesudah pemberian *purwoceng*, tikus dipelihara sampai melahirkan. Penentuan dosis EAP pada tikus berdasarkan Nasihun (2009), yaitu sebesar 25 mg untuk 300 g bobot badan atau 83,33 mg/kg bb. Penelitian ini menggunakan larutan *stock* sebanyak 25 mg, sehingga jumlah yang dicekok adalah sebesar 0,5 mL untuk 300 g bb.

Sebanyak delapan ekor tikus induk bunting yang melahirkan anak berjumlah 5-7 ekor diambil sebagai sampel dalam penelitian ini. Anak yang dilahirkan tetap disatukan dengan induknya sampai dengan waktu sapih yaitu 21 hari. Sebanyak 38 ekor yang terdiri dari 20 ekor jantan dan 18 ekor betina dibagi menjadi kelompok kontrol dan kelompok EAP, masing-masing terdiri dari 10 ekor jantan dan sembilan ekor betina. Perkembangan tulang anak-anak tikus tersebut diukur pada umur 1, 14, 28, 42, 56, dan 70 hari, dengan menggunakan seutas tali dan sebilah penggaris. Pengukuran tulang dilakukan berselang dua minggu, tujuannya untuk memberi kesempatan tulang-tulang tersebut untuk bertambah panjang. Parameter yang diukur adalah tulang kepala (*ossa cranium*), tulang punggung (*ossa vertebrae* dan *ossa sacrum*), tulang kaki depan (*os scapulae*, *os humerus*, *os radius ulna*, *os carpale*, *os metacarpale*, dan *os phalanx* distal) dan tulang kaki belakang (*os femur*, *os tibiae fibulae*, *os tarsus*, *os metatarsus* dan *os phalanx* distal). Pengukuran tulang-tulang tersebut seperti yang disajikan pada Gambar 1.

Hasil pengukuran dinyatakan dalam satuan senti meter dengan rata-rata dan simpangan baku. Perbedaan antar kelompok perlakuan dianalisis dengan sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji Duncan menggunakan



Gambar 1. Cara pengukuran tulang-tulang pada anak tikus jantan dan betina. Keterangan: X = hidung; Y = *os occipitale*; Q = *os atlas*; Z = *os sacrum*; a1 = proksimal *os scapulae*; a2 distal jari kaki depan (*os phalanx distal*); b1 = proksimal *os femur*; b2 = distal jari kaki belakang (*os phalanx distal*)

perangkat lunak komputer program *Statistical Analysis System (SAS)*.1.9.3 portable.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Panjang tulang kepala anak tikus jantan antara kontrol dan *purwoceng* tidak menunjukkan perbedaan pada hari-hari pengukuran yang telah ditetapkan, kecuali pada hari ke-42 pengukuran (Tabel 1), sedangkan tulang kepala anak tikus betina antara kontrol dan *purwoceng* menunjukkan perbedaan yang nyata pada semua hari-hari pengukuran kecuali pada hari ke-14 pengukuran (Tabel 2). Tulang kepala anak tikus betina kelompok *purwoceng* lebih panjang dibandingkan kontrol kecuali pada hari ke-14 pengukuran. Pemberian EAP yang bersifat estrogenik selama 1-13 hari kebuntingan diduga dapat memperbaiki lingkungan mikroteruterus menjadi lebih baik sehingga berdampak pada perkembangan embrio dalam uterus dan setelah lahir khususnya pada perkembangan tulang. Lingkungan mikroteruterus yang baik dapat menunjang keberlangsungan perkembangan embrio pra-implantasi sampai setelah lahir (Frot *et al.*, 2002; Gilchrist *et al.*, 2008). Aktivitas pembentukan tulang semu menjadi tulang sejati telah dipengaruhi oleh EAP sejak organogenesis sehingga pertumbuhan tulang meningkat ketika lahir (Mc Dougal *et al.*, 2002). Perbedaan yang nyata antara anak tikus jantan dan betina kontrol dan kelompok *purwoceng* teramati pada tulang belakang.

Tulang belakang anak tikus jantan dan betina kelompok *purwoceng* lebih panjang dibandingkan dengan kontrol, sedangkan tulang kaki depan tidak menunjukkan perbedaan pada semua hari pengukuran, kecuali tikus betina pada hari ke-1 dan ke-56 pengukuran. Tulang belakang menunjukkan perbedaan signifikan pada semua hari pengukuran, karena tulang tersebut pertama kali terbentuk dan mendapat paparan dari senyawa fitoestrogen selama 1-13 hari kebuntingan, sehingga pertumbuhannya juga cepat dibandingkan tulang-tulang yang lainnya. Hasil pengukuran panjang tulang kaki belakang anak tikus jantan lebih panjang pada kelompok *purwoceng* dibandingkan kontrol pada hari ke-56 dan ke-70 pengukuran (Tabel 1), sedangkan anak tikus betina lebih panjang pada kelompok *purwoceng* dibandingkan kontrol pada semua hari pengukuran (Tabel 2). Pertumbuhan tulang kaki belakang pada anak-anak tikus lebih panjang dibandingkan dengan kaki depannya disebabkan oleh stimulasi mekanik yang lebih aktif setelah lahir seperti melompat, berdiri, dan berjalan.

Estrogen dipercaya sebagai regulator metabolisme tulang (Sanz-Salvador *et al.*, 2014) sehingga selama pemberian EAP pada masa kebuntingan dapat memengaruhi kepadatan tulang induk dan anak. Fitoestrogen yang terdapat pada *purwoceng* diduga dapat berikatan dengan reseptor estrogen endogen yang mempunyai peran penting dalam meningkatkan osifikasi, menstimulasi proliferasi, dan diferensiasi kondrosit pada awal organogenesis dengan cara memproduksi *insulin-like growth factor* yang berkorelasi positif terhadap pertumbuhan tulang seperti pemanjangan tulang dan kepadatan tulang seperti yang dilaporkan oleh Potu *et al.* (2007). Laju pembentukan tulang dipengaruhi oleh sel osteoblas. Sel osteoblas dipengaruhi oleh faktor ketersediaan kalsium, posfor, kalsitriol (1,25-(OH)2D3), *bone morphogenic protein* dan hormon estrogen (Kawiyana, 2009). Estrogen berperan penting juga dalam proses osifikasi tulang (Compston, 2001; Manogalas *et al.*, 2002; Ott, 2002). Pertumbuhan panjang tulang tersebut setelah lahir mengalami peningkatan sejalan dengan meningkatnya aktivitas seperti mencari makan, *exercise*, kawin, dan bunting (Xiaoming, 2013). Tulang anak tikus betina setelah lahir (hari ke-1) pada kelompok *purwoceng* memiliki ukuran tulang yang lebih panjang dibandingkan kontrol pada semua parameter pengamatan tulang. Hasil pengun-

Tabel 1 Rataan panjang tulang anak tikus jantan selama 70 hari pengukuran yang induknya diberi ekstrak akar *purwoceng* (EAP)

Perlakuan	Rataan panjang tulang pada hari ke-					
	1	14	28	42	56	70
	Kepala (cm)					
Kontrol	0,97±0,12 ^a	2,95±0,64	3,57±0,69 ^a	4,29±0,33 ^a	4,99±0,42 ^a	5,62±0,59 ^a
EAP	1,20±0,14 ^b	2,78±0,14	4,25±0,60 ^b	5,15±0,30 ^b	5,62±0,47 ^b	6,13±0,45 ^b
	Punggung (cm)					
Kontrol	2,75±0,17 ^a	4,24±0,70 ^a	5,40±0,38 ^a	6,75±0,63 ^a	8,57±0,46 ^a	9,39±0,57 ^a
EAP	3,22±0,22 ^b	5,56±0,23 ^b	7,18±0,18 ^b	9,19±0,55 ^b	10,10±0,73 ^b	10,71±1,22 ^b
	Kaki depan kanan (cm)					
Kontrol	1,10±0,00 ^a	3,15±0,57	3,72±0,42	4,39±0,45	4,85±0,41 ^a	5,36±0,34
EAP	1,32±0,18 ^b	3,00±0,34	3,82±0,66	4,43±0,52	5,25±0,27 ^b	5,61±0,10
	Kaki depan kiri (cm)					
Kontrol	1,10±0,00 ^a	3,15±0,57	3,72±0,42	4,39±0,45	4,85±0,41 ^a	5,36±0,34
EAP	1,32±0,18 ^b	3,00±0,34	3,82±0,66	4,43±0,52	5,25±0,27 ^b	5,61±0,10
	Kaki belakang kanan (cm)					
Kontrol	1,31±0,02 ^a	4,06±0,58	4,66±0,30 ^a	5,65±0,46 ^a	6,46±0,28 ^a	7,44±0,15 ^a
EAP	1,52±0,18 ^b	4,04±0,17	5,38±0,65 ^b	6,25±0,68 ^b	7,33±0,47 ^b	8,55±0,64 ^b
	Kaki belakang kiri (cm)					
Kontrol	1,31±0,02 ^a	4,06±0,58	4,66±0,30 ^a	5,65±0,46 ^a	6,46±0,28 ^a	7,44±0,14 ^a
EAP	1,52±0,18 ^b	4,04±0,17	5,38±0,62 ^b	6,25±0,68 ^b	7,33±0,47 ^b	8,55±0,64 ^b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05) berdasarkan uji SAS.

Tabel 2 Rataan panjang tulang anak tikus betina selama 70 hari pengukuran yang induknya diberi ekstrak akar *purwoceng* (EAP).

Perlakuan	Rataan panjang tulang pada hari ke-					
	1	14	28	42	56	70
	Kepala (cm)					
Kontrol	0,88±0,10 ^a	2,77±0,61	3,72±0,33 ^a	4,20±0,20 ^a	4,99±0,37 ^a	5,49±0,42 ^a
EAP	1,16±0,10 ^b	2,81±0,13	4,13±0,31 ^b	5,00±0,20 ^b	5,50±0,31 ^b	6,02±0,37 ^b
	Punggung (Belakang) (cm)					
Kontrol	2,63±0,25 ^a	4,03±0,69 ^a	5,41±0,31 ^a	6,82±0,84 ^a	8,27±0,55 ^a	9,31±0,49 ^a
EAP	3,18±0,18 ^b	5,49±0,15 ^b	7,24±0,22 ^b	9,04±0,18 ^b	10,0±0,55 ^b	10,60±0,90 ^b
	Kaki Depan Kanan (cm)					
Kontrol	1,08±0,04 ^a	3,00±0,49	3,70±0,38	4,44±0,40	4,97±0,52 ^a	5,51±0,38
EAP	1,24±0,16 ^b	3,00±0,24	3,73±0,49	4,48±0,40	5,26±0,24 ^b	5,76±0,22
	Kaki Depan Kiri (cm)					
Kontrol	1,08±0,04 ^a	3,00±0,49	3,70±0,32	4,44±0,40	4,97±0,52 ^a	5,51±0,38
EAP	1,24±0,16 ^b	3,00±0,24	3,73±0,49	4,48±0,40	5,26±0,24 ^b	5,76±0,22
	Kaki Belakang Kanan (cm)					
Kontrol	1,28±0,04 ^a	3,84±0,53 ^a	4,58±0,39 ^a	5,66±0,28 ^a	6,48±0,28 ^a	7,29±0,36 ^a
EAP	1,48±0,13 ^b	4,16±0,08 ^b	5,24±0,36 ^b	6,14±0,43 ^b	7,41±0,49 ^b	8,67±0,58 ^b
	Kaki Belakang Kiri (cm)					
Kontrol	1,28±0,04 ^a	3,84±0,53 ^a	4,58±0,39 ^a	5,66±0,28 ^a	6,48±0,28 ^a	7,29±0,36 ^a
EAP	1,48±0,13 ^b	4,16±0,08 ^b	5,24±0,36 ^b	6,14±0,43 ^b	7,41±0,49 ^b	8,67±0,58 ^b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05) berdasarkan uji SAS.

ukuran rata-rata panjang tulang kepala, tulang punggung, dan tulang kaki belakang (kanan dan kiri) selama 70 hari pengamatan juga menunjukkan bahwa ukuran panjang tulang anak tikus betina kelompok *purwoceng* lebih panjang dibandingkan kontrol (Tabel 1 dan Tabel 2).

SIMPULAN

Pemberian ekstrak akar *purwoceng* pada induk tikus selama fase organogenesis menambah ukuran panjang tulang kepala, tulang punggung, dan tulang kaki belakang anak tikus betina selama 70 hari, sedangkan pada jantan menambah ukuran tulang belakang dan tulang kaki belakang.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian tentang efektivitas ekstrak akar *purwoceng* terhadap parameter lain terutama parameter reproduksi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Lab Fisiologi, Dept. Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi FKH IPB atas segala bantuan fasilitas yang diberikan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajjah N, Darwati I, Yudiwanti, Roostika I. 2010. Pengaruh suhu inkubasi terhadap pertumbuhan dan perkembangan embrio somatik *purwoceng* (*Pimpinella pruatjan* Molk.). *J Litri* 16:56-63.
- Compston JE. 2001. Sex steroids and bone. *J Physiol* 81:419-447.
- Frot SP, Vannahme KA, Wilson ME. 2002. Uterine capacity in the pig reflects a combination of uterine environmental conceptus genotype effects. *J Anim Sci* 80: 66-73.
- Gilchrist RB, Lane M, Thompson JG. 2008. Oocyte-secreted factors: regulation of cumulus cell function and oocyte quality. *Oxford J Hum Reprod* 14: 159-177.
- Kawiyana IKS. 2009. Osteoporosis patogenesis diagnosis dan penanganan terkini. *J Internal Med* 10: 157-170.
- Manogalas SC, Kousteni S, Jilka RL. 2002. Sex steroids and bone. *J Recent Prog Horm Res* 57: 385-409.
- Mc Dougal KRM, Peri MJ, Gibson HI, Bright JM, Colley SM, Hodgins JB, Smithies O, Tobias JH. 2002. Estrogen induce osteogenesis in intact female mice lacking ER beta. *J Physiol Endocrinol Metab* 283: 817-823.
- Nasihun T. 2009. Pengaruh pemberian ekstrak *purwoceng* (*Pimpinella alpina* Molk) terhadap peningkatan indikator vitalitas pria studi eksperimental pada tikus jantan Sprague Dawley. *Sains Medika. J Kedokteran dan Kesehatan* 1(1): 53-62.
- Ott SM. 2002. Osteoporosis and bone physiology. *J Am Med.* 228:334-341
- Potu BK, Rao MS, Swamy NVB, Kutty GN. 2007. *Cissus quadrangularis* plant extract enhances the ossification of fetal bones. *J Pharmacol* 1: 63-70.
- Rahardjo M. 2003. *Purwoceng* tanaman obat aprodisiak yang langka. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* 9(2): 4-7.
- Sanz-Salvador L, Garcya-Perez MA, Taryn JJ, Cano A. 2014. Bone metabolic changes during pregnancy: a period of vulnerability to osteoporosis and fracture. *Eur J Endocrinol* 172(2): 53-65.
- Satyaningtjas AS, Maheshwari H, Achmadi P, Pribadi WA, Hapsari S, Jondrianto D, Bustaman I, Kiranadi B. 2014. Reproduction performance of rat administered ethanolic extract of *purwoceng* (*Pimpinella alpina*). *J Kedokteran Hewan* 8(1): 35-37.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 1988. *Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis*. Jakarta (ID): UI Press.
- Xiaoming, Yan, Lisha, Haifeng, Xufeng, Huang, Feng, Yubo. 2013. *Effect of substrate stiffness on the functions of rat bone marrow and adipose tissue derived mesenchymal stem cells in vitro*. *J Biomed Mat Res Part A* 102(4): 917-1220.