

Panjang Siklus Estrus dan Struktur Histologi Ovarium Tikus Putih Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kaliandra Merah

*(ESTROUS CYCLE LENGTH AND HISTOLOGY STRUCTURE OF ALBINO RAT
(RATTUS NORVEGICUS) OVARY AFTER GIVEN RED CALLIANDRA
(CALLIANDRA CALOTHYRSUS MEISSN) ETHANOLIC LEAF EXTRACT)*

**Kadek Mardika*, Iriani Setyawati,
Anak Agung Ketut Darmadi**

Program Studi Biologi,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Udayana,
Jl. Raya Kampus Unud, Bukit Jimbaran, Kuta Selatan,
Badung, Bali, Indonesia, 803613,
Telp. 0361 701954 ext.235 *E-mail: gumardika@gmail.com

ABSTRACT

Red calliandra (*Calliandra calothyrsus* Meissn.) leaves contain chemical compounds such as flavonoids, tannins, and steroids. Previous research of *C. calothyrsus* leaf extracts showed effect on male mice reproduction, but no research has been done about its effect on estrous cycle and histology structure of albino rat ovary. This research aimed to study the potency of *C. calothyrsus* leaf extracts as phytoestrogen on the female reproductive organ through observing the estrous cycles, and histological structure and weight of the ovaries. Twenty four of 54-day-old female albino rats (*Rattus norvegicus*) Wistar strain were divided into four groups i.e. placebo control (given 0.5% Na-CMC solvent) and three treatment groups of *C. calothyrsus* leaf extracts in dosages 17.5; 35; and 70 mg/kg BW (respectively, group P1, P2 and P3). Treatments were administered orally in 1 ml/rat/day for 20 days. The vaginal smears were investigated from day 5th for 15 days (three estrous cycles). It was carried out every 8 hours/day. At the end of the treatments, rats were dissected for collecting the ovaries. They were weighed and prepared histologically then by using paraffin method with Hematoxylin-Eosin staining. The parameters observed were ovary weight and histological structures, including the number of primary follicles, secondary follicles, tertiary follicles, de Graff follicles, corpus luteum, and atretic follicles. The results showed that *C. calothyrsus* leaf extracts have a phytoestrogenic potency by shortened the proestrous and estrous phases, increased the corpus luteum number and decreased the ovarian weights significantly at dose 70 mg/kg BW.

Keywords: *Calliandra calothyrsus*; estrous cycles; ovaries histology; ovaries weight

ABSTRAK

Daun kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.) mengandung senyawa kimia antara lain flavonoid, tanin dan steroid. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun kaliandra merah berpengaruh terhadap reproduksi mencit jantan, namun belum pernah dilakukan penelitian tentang pengaruhnya terhadap siklus estrus dan histologi ovarium tikus putih betina. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi daun kaliandra merah sebagai fitoestrogen terhadap organ reproduksi betina dengan melihat siklus estrus, struktur histologi, dan bobot ovarium. Dua puluh empat ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar betina umur 54 hari dibagi menjadi empat kelompok yaitu satu kontrol plasebo (diberi pelarut Na-CMC 0,5%), dan tiga kelompok perlakuan ekstrak daun kaliandra merah dosis 17,5; 35; dan 70 mg/kg BB. Perlakuan diberikan selama 20 hari sebanyak 1 ml ekstrak/ekor/hari secara oral (*gavage*). Dibuat apusan vagina kemudian diamati setelah hari ke-5 perlakuan setiap 8 jam/hari selama tiga kali siklus estrus (15 hari). Di hari terakhir perlakuan (hari ke-21), tikus dibedah untuk isolasi organ ovarium. Ovarium ditimbang kemudian dipreparasi histologi dengan metode parafin dan

pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Parameter yang diamati adalah struktur histologi (jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, folikel de Graff, korpus luteum, dan folikel atresia) dan bobot ovarium. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kaliandra merah (*C. calothyrsus* Meissn.) memiliki potensi fitoestrogen mempersingkat fase proestrus dan estrus, meningkatkan jumlah korpus luteum, serta menurunkan bobot ovarium secara nyata pada dosis 70 mg/kg BB.

Kata-kunci: *Calliandra calothyrsus* Meissn; bobot ovarium; histologi ovarium; siklus estrus

PENDAHULUAN

Obat herbal merupakan obat yang bahan bakunya berasal dari alam misalnya dari tumbuhan, hewan, mineral, kemudian dari bahan tersebut diramu berdasarkan pada teori, keyakinan, dan pengalaman budaya asli yang berbeda, digunakan dalam menjaga kesehatan tubuh serta dalam pencegahan, diagnosis, peningkatan atau pengobatan penyakit fisik dan mental. Umumnya bahan dasar obat herbal menggunakan berbagai bagian tumbuhan diantaranya akar, daun, batang, umbi dan hampir seluruh bagian tumbuhan dapat digunakan sebagai obat herbal (WHO, 2000; Dewoto, 2007). Salah satu produk obat herbal yang berasal dari tanaman yaitu fitoestrogen. Fitoestrogen adalah senyawa aktif berasal dari tumbuhan yang memiliki sifat hampir sama dengan hormon estrogen. Fitoestrogen banyak ditemukan pada kelompok tumbuhan biji-bijian, kacang-kacangan, buah-buahan, dan sayuran (Biben, 2012). Fitoestrogen umumnya dikonsumsi oleh wanita yang mengalami *perimenopause* dan wanita yang sudah mengalami *menopause* karena dipercaya dapat memberikan efek yang positif bagi tubuh yang kekurangan hormon estrogen.

Fitoestrogen umumnya dikonsumsi oleh wanita reproduktif yang mengalami gangguan reproduksi dan problem fertilitas karena dipercaya dapat melancarkan siklus haid dan menjaga kesuburan. Fitoestrogen juga berkhasiat untuk mengurangi gejala-gejala *menopause* (Widhayanthi *et al.*, 2017).

Menarche adalah menstruasi yang pertama kali dialami oleh wanita pubertas pada kisaran umur 8-16 tahun. Dimulainya *menarche* menandakan kesiapan organ reproduksi wanita, cepat atau lambat *menarche* sering dikaitkan dengan paparan hormon reproduksi salah satunya hormon estrogen (Putra *et al.*, 2016). Seorang wanita yang baru *menarche* umumnya mengalami gangguan siklus menstruasi yaitu siklus menstruasi belum teratur. Menstruasi yang tidak teratur disebabkan oleh gangguan sistem hormonal, dalam hal ini masih rendahnya produksi homon

estrogen oleh ovarium (Bobak, 2004).

Rendahnya kadar estrogen dapat memperlambat pelepasan sel telur (ovulasi) akibat tidak terjadi umpan balik positif (*positive feedback*) pada hipofisis anterior untuk mensekresikan LH. Fitoestrogen mampu berikatan dengan reseptor estrogen sehingga kadar hormon estrogen dalam tubuh menjadi meningkat. Peningkatan hormon estrogen memberikan umpan balik positif (*positive feedback*) pada hipofisis anterior untuk memproduksi LH (*Luteinizing Hormone*), sehingga membantu mempercepat terjadinya pelepasan sel telur (ovulasi) dan siklus estrus menjadi singkat (Widhayanthi *et al.*, 2017).

Tumbuhan kaliandra merah (*C. calothyrsus* Meissn.) merupakan famili dari leguminosae. Tumbuhan kaliandra merah (*C. calothyrsus* Meissn.) dibudidayakan secara komersial di Indonesia pada tahun 70-an karena memiliki banyak manfaat yaitu sebagai biopestisida, pupuk hayati, obat tradisional, bahan dasar pembuatan kertas, kayu bakar, dan suplemen tambahan pakan ternak. Kaliandra merah (*C. calothyrsus* Meissn.) mengandung protein kasar 24%, serat kasar 24-34%, lemak 4,1-5%, abu 5-7,5%, ADF (*Acid Detergent Fiber*) 27%, selulase 15% dan lignin 10-11,9% (Tiemann, 2008).

Selain mengandung senyawa yang bermanfaat untuk metabolisme, daun kaliandra merah juga mengandung senyawa aktif yaitu tanin, flavonoid dan steroid. Senyawa flavonoid dan steroid termasuk golongan fitoestrogen yang mampu mengenali dan berikatan dengan reseptor-reseptor estrogen dalam tubuh (Biben, 2012). Senyawa-senyawa tersebut dipercaya dapat mempengaruhi sistem hormon reproduksi betina. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa tepung daun kaliandra merah berpengaruh terhadap reproduksi mencit jantan yaitu dapat menurunkan kadar hormon testosteron namun masih dalam kisaran normal untuk membantu dalam proses spermatogenesis (Setyawati *et al.*, 2017). Namun belum pernah dilakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak daun kaliandra merah terhadap siklus estrus dan histologi ovarium tikus putih betina.

Berdasarkan latar belakang tersebut perlu dilakukan penelitian penggunaan daun kaliandra merah sebagai sumber fitoestrogen bahan obat herbal untuk mengetahui pengaruhnya terhadap panjang siklus estrus dan perkembangan folikel dalam ovarium. Apabila terbukti ekstrak daun kaliandra merah berpengaruh positif terhadap reproduksi tikus betina prapubertas melalui parameter panjang siklus estrus serta bobot dan histologi ovarium, maka ekstrak ini dapat digunakan sebagai sumber fitoestrogen untuk mengatasi gangguan siklus menstruasi dan fertilitas.

METODE PENELITIAN

Pembuatan dan pemberian dosis ekstrak daun kaliandra merah

Koleksi daun kaliandra merah dilakukan di daerah Bedugul, Tabanan, Bali. Daun yang dikoleksi yaitu daun yang masih muda dan hijau segar. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi dengan perbandingan 1:5 (Etanol : daun kaliandra merah) dan pelarut yang digunakan adalah etanol. Hasil proses maserasi kemudian dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kasar. Pembuatan dosis pada Perlakuan dosis 1 (P1=17,5 mg/kg BB), ekstrak ditimbang sebanyak 0,21 g dan ditambahkan dengan 120 ml Na-CMC 0,5% lalu dihomogenkan menggunakan *vortex*. Hal yang sama dilakukan yaitu penambahan Na-CMC 0,5% untuk memperoleh larutan ekstrak pada perlakuan dosis 2 (P2=35 mg/kg BB) ekstrak ditimbang sebanyak 0,42 g dan untuk perlakuan dosis 3 (P3=70 mg/kg BB) ekstrak ditimbang sebesar 0,85 g. Ekstrak daun kaliandra merah diberikan dalam bentuk suspensi dalam larutan Na-CMC 0,5% sebanyak 1 ml/ekor/hari dengan metode *gavage* (pencekokan) selama 20 hari.

Pemeliharaan hewan coba

Sebanyak 24 ekor tikus putih betina (umur 54 hari) diaklimatisasi selama 7 hari dan diberikan pakan komplit butiran standar babi CP 551 (PT Charoen Pokphand, Indonesia) dan pemberian air minum secara *ad libitum*. Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap, sehingga didapat 4 perlakuan (P0=Kontrol plasebo; P1=17,5 mg/kg BB; P2=35 mg/kg BB; P3=70 mg/kg BB) dengan 6 ulangan.

Pemeriksaan siklus estrus tikus putih betina

Pemeriksaan siklus estrus tikus putih betina dilakukan 2 kali/hari dengan interval waktu 8 jam berturut-turut selama 15 hari (tiga kali siklus estrus) dan dimulai dari hari ke-5 perlakuan. Pemeriksaan diawali dengan dimasukkannya *cutton bud* yang telah dibasahi dengan NaCl 0,9% ke dalam vagina tikus sedalam ½ cm. *Cotton bud* diusap sebanyak 1-2 kali putaran. Hasil usapan *cutton bud* kemudian dioleskan pada kaca objek yang telah terlebih dahulu ditetesi NaCl 0,9%. Tahapan selanjutnya gelas benda yang telah terisi apusan vagina kemudian difiksasi dengan alkohol 70% selama 5 menit, kemudian diwarnai dengan pewarna *Giemsa* 10% dan di-*smear* dengan gelas benda lain dengan membentuk sudut 30-45° lalu dibiarkan selama 3-5 menit. Kelebihan zat warna pada gelas benda diserap menggunakan kertas saring kemudian dilakukan pembilasan dengan air mengalir. Selanjutnya dikering-anginkan beberapa menit dan diamati struktur morfologi sel epitel vagina di mikroskop dengan perbesaran 100×. Apusan vagina pada saat estrus akan menunjukkan sel epitel yang menanduk (Sulastri *et al.*, 2014).

Penimbangan organ ovarium tikus putih betina

Di akhir perlakuan pada hari ke-21, tikus dibedah untuk diambil organ ovarium (kanan). Ovarium yang telah diisolasi dicuci dengan larutan NaCl 0,9%. Selanjutnya, ovarium ditimbang menggunakan timbangan analitik yang sebelumnya organ telah ditiriskan menggunakan kertas saring. Ovarium yang telah ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam botol aluvial yang telah berisi larutan NBF 10% (*Neutral Buffer Formalin* 10%).

Preparasi sayatan histologi

Preparasi sayatan histologi ovarium dilakukan menggunakan metode parafin dengan pewarnaan yang digunakan adalah *Hematoxylin-Eosin*, dengan ketebalan pita irisan 5 µm (Assiam *et al.*, 2014). Hasil preparasi sayatan histologi kemudian diamati di bawah mikroskop dan dihitung jumlah folikel, yang meliputi folikel primer, sekunder, tersier, de Graaf, korpus luteum, dan atresia pada setiap kelompok.

Analisis Data

Data hasil pengamatan siklus estrus, bobot ovarium dan jumlah folikel ovarium kemudian

dianalisis statistik menggunakan *SPSS v.22 for Windows* dengan uji *One Way ANOVA* dan apabila menunjukkan hasil yang berbeda nyata (*significant*) maka dilanjutkan dengan uji *Duncan*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji statistik pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kaliandra merah (*C. calothyrsus* Meissn.) tidak berpengaruh terhadap panjang total siklus estrus maupun panjang fase estrus, metestrus, dan diestrus dalam siklus estrus, sebaliknya rata-rata panjang fase proestrus menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$). Fase proestrus paling singkat ditemukan pada kelompok P3 atau dosis tertinggi 70 mg/kg BB (5,78±4,28).

Fase proestrus merupakan fase peningkatan hormon estrogen dalam darah seiring dengan perkembangan folikel primer menjadi folikel de Graaf yang distimulasi oleh hormon FSH (*Folicle Stimulating Hormone*). Selanjutnya fase estrus merupakan puncak peningkatan hormon estrogen dalam darah, tingginya kadar estrogen dalam darah menyebabkan sekresi hormon FSH menjadi rendah, sedangkan hormon LH (*Luteinizing Hormone*) mulai meningkat untuk merangsang pematangan sel telur (*positive feedback*) (Macmillan dan Burke, 1996).

Fase folikular yang singkat diduga karena adanya senyawa aktif yaitu golongan fitoestrogen yang terkandung dalam daun kaliandra merah (*C. calothyrsus* Meissn.). Suatu senyawa dapat dikelompokkan senyawa fitoestrogen karena memiliki dua gugus hidroksil (OH) yang juga dimiliki oleh hormon estrogen di dalam tubuh.

Flavonoid yang merupakan kelompok senyawa isoflavon dapat berikatan langsung dengan ERs karena memiliki struktur kimia yang mirip dengan 17- β estradiol, sedangkan steroid yang merupakan kelompok fitosterol tidak dapat berikatan langsung dengan ERs (*Estrogen Receptors*) sehingga perlu disintesis lagi dengan bantuan enzim tertentu yang dihasilkan oleh mitokondria dan retikulum endoplasma halus (REH) untuk mendapatkan struktur kimia yang mirip dengan 17- β estradiol (Russel et al., 2000). Kandungan Flavonoid dan steroid yang terdapat pada daun kaliandra merah (*C. calothyrsus* Meissn.) merupakan kelompok fitoestrogen yang mampu mengenali dan berikatan dengan reseptor-reseptor estrogen yaitu ERs (*Estrogen Receptors*) yang terdapat pada membran nukleus dan membran plasma yang ada pada organ target, serta memiliki aktivitas yang hampir sama dengan hormon estrogen di dalam tubuh (17- β estradiol) (Mahmudati, 2011). ERs (*Estrogen Receptors*) dalam tubuh terbagi menjadi dua jenis yaitu ERs- α (*alpha*) dan ERs- β (*beta*). ERs- α terdapat di berbagai organ target salah satunya ovarium dan uterus, sedangkan ERs- β terdapat pada organ ovarium, hipotalamus, paru-paru, dan ginjal (Satyaningtijas et al., 2014; Lusiana, 2017).

Adanya asupan senyawa fitoestrogen ke tubuh dapat membantu mengisi kekosongan reseptor estrogen yang belum berikatan dengan estrogen dalam tubuh, sehingga kadar estrogen dalam darah meningkat dan merangsang hipotalamus mensekresikan GnRF (*Gonadotropin Releasing Factor*) agar hipofisis anterior memperbanyak mensekresikan hormon FSH untuk menstimulasi folikel primer menjadi de Graaf (Russel et al., 2000). Kadar estrogen dalam darah yang sangat tinggi menyebabkan lonjakan hormon LH dalam darah, kondisi ini

Tabel 1. Rataan Panjang Fase dalam Siklus Estrus Tikus (*Rattus norvegicus*) setelah Pemberian Ekstrak Daun Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.)

No.	Perlakuan	Rata-Rata Panjang Fase dalam Siklus Estrus (Jam)				
		Proestrus	Estrus	Metestrus	Diestrus	Total Siklus
1.	P0	11,13±1,06 ^{ac}	13,80±5,43	19,90±5,75	32,00±6,93	76,98±3,99
2.	P1	14,23±3,65 ^a	15,57±5,95	19,93±3,66	32,47±4,58	82,20±2,99
3.	P2	8,90±2,79 ^{cb}	12,00±1,42	16,88±3,99	42,20±3,93	79,98±0,07
4.	P3	5,78±4,28 ^b	11,13±1,06	23,53±6,18	38,21±8,05	78,66±5,92

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). P0 = Na-CMC 0,5%; P1 = 17,5 mg/kg BB; P2 = 35 mg/kg BB; P3 = 70 mg/kg BB.

menyebabkan fase proestrus menjadi relatif singkat dan siklus estrus menjadi singkat karena salah satu fase berlangsung singkat. Hal ini ditemukan pada dosis tertinggi yaitu 70 mg/kg BB yang terjadi pemendekan lama proestrus dibandingkan kontrol (Tabel 1).

Hasil pemeriksaan siklus estrus juga didukung dengan perhitungan jumlah folikel dan gambaran histologi ovarium, hal ini dikarenakan semakin singkat fase proestrus

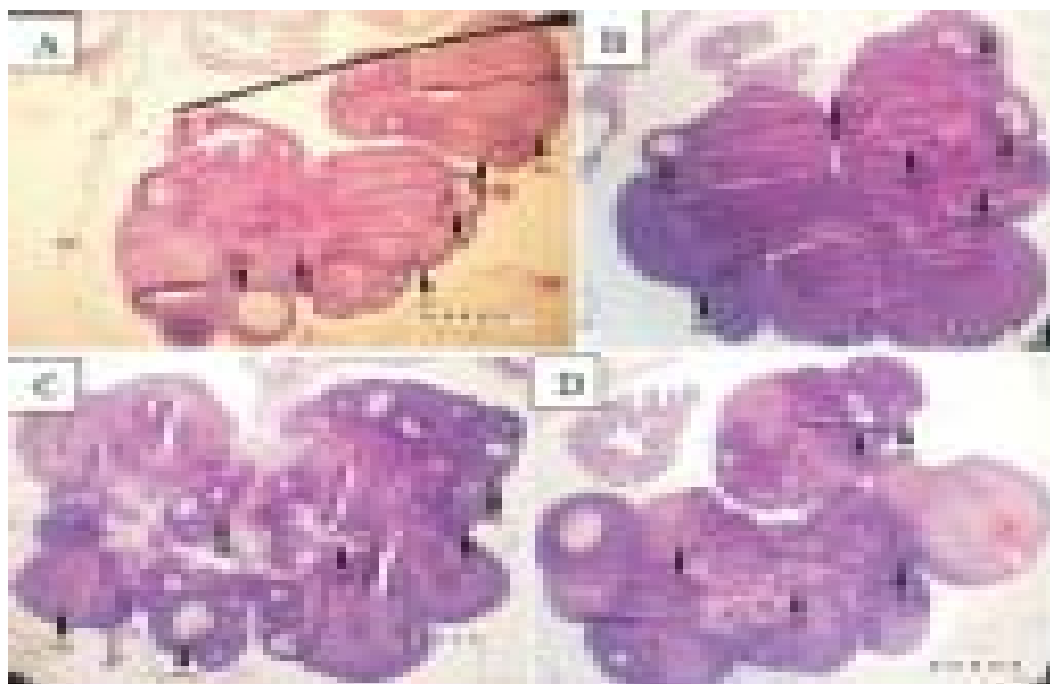
maka lebih banyak ditemukan folikel yang mengalami ovulasi. Pemberian perlakuan daun kaliandra merah secara nyata ($P < 0,05$) berpengaruh terhadap jumlah folikel tersier (P1) dan folikel de Graff (P3). Hanya perlakuan P3 (35 mg/kg BB) secara nyata ($P < 0,05$) berpengaruh terhadap jumlah korpus luteum dan jumlah folikel atresia (Tabel 2., Gambar 1).

Berdasarkan data yang ditunjukkan pada Tabel 2. dosis P3 yaitu 70 mg/kg BB mampu

Tabel 2. Rataan Jumlah Folikel Ovarium Tikus (*Rattus norvegicus*) setelah Diberi Ekstrak Daun Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.)

No. Perlakuan	Rata-Rata Jumlah Folikel Ovarium					
	FP	FS	FT	FG	KL	FA
1. P0	27,83±7,73 ^a	15,83±2,31 ^a	7,50±6,32 ^{ac}	4,33±1,63 ^a	4,50±1,37 ^a	1,33±1,75 ^a
2. P1	25,33±8,52 ^a	16,00±9,38 ^a	13,33±3,01 ^b	3,00±2,68 ^{ab}	5,83±2,14 ^a	1,50±1,05 ^a
3. P2	23,00±12,44 ^a	14,17±2,93 ^a	11,83±2,48 ^{cb}	2,33±1,21 ^{ab}	6,00±1,41 ^a	2,50±1,05 ^{ab}
4. P3	22,17±3,76 ^a	13,00±2,83 ^a	5,00±1,78 ^a	1,83±1,47 ^b	8,00±0,89 ^b	4,00±1,41 ^b

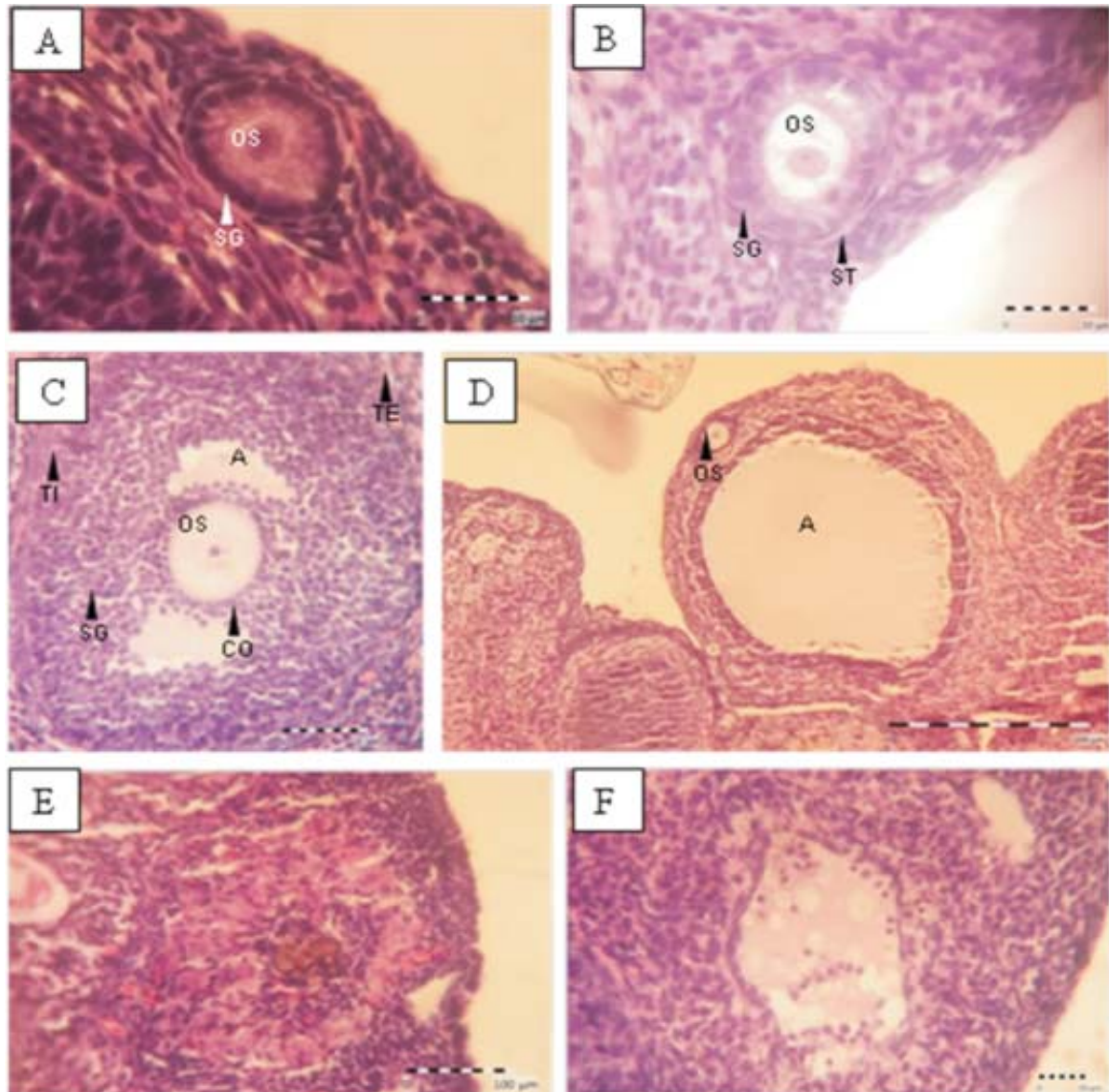
Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). P0 = Na-CMC 0,5%; P1 = 17,5 mg/kg BB; P2 = 35 mg/kg BB; P3 = 70 mg/kg BB; Singkatan: FP = Folikel Primer; FS = Folikel Sekunder; FT = Folikel Tersier; FG = Folikel de Graff; KL = Korpus Luteum; FA = Folikel Atresia.



Gambar 1. Histologi Ovarium Tikus (*Rattus norvegicus*) setelah Pemberian Ekstrak Daun Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.). Keterangan: A. P0 (Na-CMC 0,5%); B. P1 (17,5 mg/kg BB); C. P2 (35 mg/kg BB); D. P3 (70 mg/kg BB); Singkatan: FP = Folikel Primer; FS = Folikel Sekunder; FT = Folikel Tersier; FG = Folikel de Graff; KL = Korpus Luteum; M = Medula Ovarium; K = Korteks Ovarium (Scale bar 200 µm; Perbesaran 50X).

mempersingkat perkembangan sel telur (*oogenesis*) ovarium sampai ke tahap pelepasan sel telur (ovulasi). Hal ini sesuai dengan pernyataan Losel *et al.* (2003) dan Gogos *et al.* (2015) bahwa senyawa fitoestrogen akan berikatan dengan ERs- α atau ERs- β pada sel granulosa folikel ovarium kemudian terjadi mekanisme genomik (mekanisme yang melibatkan DNA) dan non genomik (mekanisme tanpa melibatkan DNA namun melibatkan molekul *signaling*) sehingga sel granulosa akan

aktif membelah (proliferasi) yang menyebabkan diameter folikel menjadi bertambah. Semakin singkat durasi fase folikular maka semakin singkat terjadi ovulasi dan semakin banyak korpus luteum yang terbentuk. Makin singkatnya siklus estrus maka ovulasi terjadi lebih cepat sehingga sel telur akan lebih cepat tersedia di saluran reproduksi betina yaitu di tuba falopi yang merupakan tempat terjadinya fertilisasi. Apabila pada saat itu ada spermatozoa yang masuk dan tiba di tempat fertilisasi



Gambar 2. Histologi Folikel Ovarium Tikus (*Rattus norvegicus*) setelah Pemberian Ekstrak Daun Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.). Keterangan: A. Folikel Primer (P1); B. Folikel Sekunder; C. Folikel Tersier; D. Folikel de Graff (P0); E. Korpus Luteum (P3); F. Folikel Atresia (P2); Singkatan: OS = Oosit; SG = Sel Granulosa; ST = Sel Teka; A = Antrum (berisi cairan folikel); CO = *Cumulus Oophorus*; TI = Teka Interna; TE = Teka Eksterna. Scale bar 10 μ m (A, B, dan F), 20 μ m (C), dan 100 μ m (D dan E). Perbesaran 400 \times (A, B, C, dan F) dan 100 \times (D).

sehingga peluang terjadi fertilisasi menjadi lebih tinggi dalam membuahi sel telur, sebagai awal dari masa *gestasi* (masa kehamilan).

Jumlah folikel atresia pada kelompok P3 (70 mg/kg BB) paling banyak dijumpai pada gambaran histologi ovarium yaitu dengan rata-rata 4,00±1,41. Hal ini disebabkan oleh adanya efek samping dari senyawa-senyawa aktif yang berlebih pada dosis 70 mg/kg BB, salah satu senyawa aktif yang tidak boleh berlebih ada dalam tubuh yaitu tanin.

Konsumsi tanin yang berlebihan dapat merusak struktur membran plasma mitokondria sehingga proses metabolisme sel terganggu dan memungkinkan mempercepat kematian sel (nekrosis) (Susetyarini, 2013). Sel granulosa yang mengalami kerusakan ditandai dengan sel terlepas dari jaringan ikat (Gambar 2F), rusaknya sel granulosa menyebabkan perkembangan *gap junction* antara oosit dan sel granulosa untuk membentuk antrum menjadi tidak normal, sehingga folikel tidak dapat berkembang sampai fase de Graff (Alchalabi *et al.*, 2017). Antrum merupakan kantung-kantung kecil yang menyatu dan berisi cairan folikel yang dibentuk oleh sel-sel granulosa, semakin besar antrum maka sel telur akan terdesak ke tepi ovarium sehingga folikel akan membentuk bukaan (*stigma*) agar sel telur dapat keluar menuju saluran reproduksi yaitu tuba falopi (ovulasi) (Sulastri *et al.*, 2014).

Menurut Elmore (2007), ada beberapa faktor yang menyebabkan kematian sel, selain karena kematian terprogram (apoptosis) juga karena faktor pengaruh dari lingkungan di luar sel yaitu paparan senyawa aktif yang masuk ke dalam tubuh. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, semakin tinggi dosis ekstrak daun kaliandra yang diberikan maka semakin besar tanin terkondensasi dalam ekstrak, sehingga menyebabkan jumlah folikel atresia meningkat.

Aktivitas ekstrak daun kaliandra merah (*C. calothyrsus* Meissn.) terhadap bobot ovarium tikus putih (*R. norvegicus*) betina, menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dan perlakuan terutama pada P3 (70 mg/kg BB) (Tabel 3). Pengaruh ekstrak daun kaliandra merah (*C. calothyrsus* Meissn.) terhadap bobot ovarium tikus putih (*R. norvegicus*) betina, menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dan perlakuan (Tabel 3). Penurunan bobot ovarium disebabkan oleh banyak folikel yang mengalami ovulasi pada dosis tertinggi 70 mg/

Tabel 3. Bobot Ovarium Tikus (*Rattus norvegicus*) setelah Diberi Perlakuan Ekstrak Daun Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.).

No.	Perlakuan	Rata-Rata Bobot Ovarium
1.	P0	0,0346±0,0722 ^a
2.	P1	0,0348±0,0051 ^a
3.	P2	0,0312±0,0045 ^{ab}
4.	P3	0,0255±0,0056 ^b

Keterangan: Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05). P0 = Na-CMC 0,5%; P1 = 17,5 mg/kg BB; P2 = 35 mg/kg BB; P3 = 70 mg/kg BB.

kg BB yang ditandai dengan lebih banyak terbentuk korpus luteum dan sedikit dijumpai folikel tersier dan de Graff pada histologi ovarium jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan P0, P1, dan P2 (Tabel 2., Gambar 1D).

Peningkatan ataupun penurunan bobot ovarium tergantung dari jumlah folikel yang matang atau yang siap diovulasikan karena pada folikel tersier dan de Graff terdapat kantung (antrum) yang berisi cairan folikel sehingga memberikan berat tambahan pada ovarium itu sendiri. Selain itu, tingginya kandungan senyawa aktif dalam tubuh juga dapat mengganggu sistem hormonal pada hipofisis anterior untuk mensekresikan hormon FSH dalam menstimulasi perkembangan folikel (Hamdani, 2013). Hasil penelitian ini sejalan dengan hal tersebut yaitu lebih sedikit dijumpai folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, dan folikel de Graff pada perlakuan dosis tertinggi ekstrak daun kaliandra 70 mg/kg BB, dibandingkan dengan kelompok perlakuan P0, P1, dan P2 (Gambar 1D).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kaliandra merah (*C. calothyrsus* Meissn.) memiliki potensi fitoestrogen yaitu mempersingkat fase proestrus, meningkatkan jumlah korpus luteum, serta menurunkan bobot ovarium pada dosis 70 mg/kg BB.

SARAN

Penelitian selanjutnya dapat dilakukan fraksinasi untuk mengetahui senyawa aktif manakah yang paling berpengaruh terhadap panjang siklus estrus, jumlah folikel, dan bobot ovarium tikus putih.

DAFTAR PUSTAKA

- Alchalabi ASH, Rahim H, Malek MFA, Aklilu E, Aziz AR, Ronald SH, Khan MA. 2017. Micronuclei Formation and 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine Enzyme Detection in Ovarian Tissues After Radiofrequency Exposure at 1800 MHz in Adult Spraguee Dawley Rats. *Hayati Journal of Biosciences* 24: 79-86.
- Assiam N, Setyawati I, dan Sudirga SK. 2014. Pengaruh Dosis dan Lama Perlakuan Ekstrak Daun Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.) terhadap Struktur Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus* L.). *Jurnal Simbiosis II* (2): 236-246.
- Biben HA. 2012. Fitoestrogen: Khasiat terhadap Sistem Reproduksi, Non Reproduksi, dan Keamanan Penggunaan. Seminar Ilmiah Nasional Estrogen sebagai Sumber Hormon Alami. [http:// biofarmaka.ipb.ac.id / phocadownloadpap/userupload/Info /2012/20120402%20Material%20from%20%20Prof.%20A%20Biben.pdf](http://biofarmaka.ipb.ac.id/phocadownloadpap/userupload/Info/2012/20120402%20Material%20from%20%20Prof.%20A%20Biben.pdf). [21 September 2017].
- Bobak LJ. 2004. Buku Ajar Keperawatan *Maternitas / Maternity Nursing (Edisi 4)*, Alih Bahasa Maria A, Wijayati, dan Peter IA. EGC. Jakarta.
- Dewoto HR. 2007. Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia* 57(7): 205-211.
- Elmore S. 2007. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicologic Pathology* 35(4): 495-516.
- Gogos A, Sbisa AM, Sun J, Gibbons A, Udawela M, and Dean B. 2015. A Role for Estrogen in Schizophrenia: Clinical and Preclinical Findings. *International Journal of Endocrinology*. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/615356>. [24 Februari 2018]
- Hamdani MDI. 2013. Hubungan Antara Berat Badan Sapi Betina Peranakan Ongole dan Sapi Persilangan pada Tingkatan Umur yang Berbeda terhadap Ukuran dan Karakteristik Ovariumnya. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu* 1(3): 37-39.
- Losel RM, Falkenstein E, Feuring M, Schultz A, Tillman HM, Haseroth KR, Wehlin. 2003. Nongenomic Steroid Action: Controversies, Questions, and Answers. *Physiol Rev* 83: 965–1016.
- Lusiana, N. 2017. Pengaruh Fitoestrogen Daging Buah Kurma Ruthab (*Phoenix dactylifera* L.) terhadap Sinkronisasi Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus* L.) Betina. *Klorofil* 1(1): 24-31.
- Macmillan KL and Burke AJ. 1996. Superovulatory doses of Pregnant Mare Serum Gonadotropin cause Delayed Implantation and Infertility in Immature Rats. *Bio. Reprod.* 25: 253-260.
- Mahmudati N. 2011. Kajian Biologi Molekuler Peran Estrogen /Fitoestrogen pada Metabolisme Tulang Usia Menopause. Seminar Nasional VIII Pendidikan Biologi 8(1):421-430.
- Onyeama HP, Ibekwe HA, Ofemile PY, Peter A, Ahmed MS, and Nwagbo PO. 2012. Screening and Acute Toxicity Studies of *Calliandra portoricensis* (ERI AGBO In Igbo) Used in the Treatment of Snake Bite in South Eastern Nigeria. *Vom. Journal of Veterinary Science* 9: 17-24.
- Putra IGN, Pradnyani PE, Pragmaningtyas MS, Kusumadewi NMC, Widarini NP. 2016. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Umur Menarche (Menstruasi Pertama) pada Siswi Sekolah Dasar di Kota Denpasar. *BIMKMI* 4(1): 31-38.
- Russel KS, Haynes MP, Sinha D, Clerisme E, and Bender JR. 2000. The Human Vascular Endothelial Cells Contain Membran Binding Site for Estradiol. Wich Mediated Rapid Intracelullar Signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 5390-5935.
- Satyaningtijas AS, Maheshwari H, Achmadi P, Agung Pribadi W, Hapsari S, Jondriatno D, Bustaman I, dan Kiranadi B. 2014. Kinerja Reproduksi Tikus Bunting Akibat Pemberian Ekstrak Etanol Purwoceng. *Jurnal Kedokteran Hewan* 8(1): 35-37.

- Setyawati I, Putra IGNAD, dan Roni NGK. 2017. Histologi Tubulus Seminiferus dan Kadar Testosteron Tikus yang Diberi Pakan Imbuhan Tepung Daun Kaliandra dan Kulit Nanas. *J Veteriner* 18(3): 369-377.
- Subekti S, Sumarti SS, Mudiarti TB. 2008. Pengaruh Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) dalam Ransum terhadap Fungsi Reproduksi pada Puyuh. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner* 13(3): 167-174.
- Sulastri S, Wiratmini NI, dan Suriani NL. 2014. Panjang Siklus Estrus Mencit (*Mus musculus* L.) yang Diberi Pemanis Buatan Aspartam secara Oral. *Jurnal Biologi* 18(2): 69-72.
- Susetyarini RE. 2013. Aktivitas Tanin Daun Beluntas terhadap Konsentrasi Spermatozoa Tikus Putih Jantan. *Jurnal Gamma* 8(2): 14-20.
- Tiemann TT, Avila P, Kamirez G, Lascano CE, Kreuzer M, and Hess HP. 2008. In Vitro Ruminal Fermentation of Tanniniferous Tropical Plants: Plant Specific Tannin Effects and Counteracting Efficiency of PEG. *Anim Feed Sci and Tech.* 146: 222-241
- WHO (World Health Organization). 2000. *Guidelines for the Regulatory Assessment of Medicinal Products for use in Self-Medication.* World Health Organization. Geneva.
- Widhayanthi TA, Pangkahila W, Pinatih GNI. 2017. Pemberian Suplemen Swissoats A3® Meningkatkan Kadar Hormon Estrogen pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina Menopause Galur Wistar. *Jurnal Biomedik* 9(2): 75-81.