

Pemberian Ekstrak Oncom Hitam dan Merah Memperpanjang Siklus Estrus dan Mempertebal Endometrium Tikus Putih

*(BLACK AND RED ONCOM EXTRACT SUPPLEMENTATION LENGTHEN ESTROUS
CYCLE AND THICKEN ENDOMETRIUM OF WHITE RATS)*

**Hanifah Alshofa Nurul Aini¹, Desak Nyoman Dewi Indira Laksmi²,
Ni Luh Eka Setiasih³, Steven Dwi Purbantoro⁴**

¹Mahasiswa Program Studi Magister Kedokteran Hewan,

²Laboratorium Reproduksi Veteriner,

³Laboratorium Histologi Veteriner,

⁴Mahasiswa Program Profesi Dokter Hewan,

Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,
Jl. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia, 80234
Telp/Fax: (0361) 223791; e-mail: drh.hani@gmail.com

ABSTRAK

Fitoestrogen adalah senyawa aktif yang berasal dari tumbuhan dan memiliki struktur dan fungsi yang sama dengan hormon estrogen. Fitoestrogen banyak ditemukan pada tanaman kacang-kacangan. Oncom yang diduga mengandung fitoestrogen adalah salah satu makanan sehari-hari asli Indonesia yang terbuat dari kacang-kacangan yang terkenal dan banyak dikonsumsi di Jawa Barat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak oncom terhadap siklus estrus, tebal endometrium, dan jumlah folikel antral tikus putih (*Rattus novvergicus*) usia produktif. Penelitian eksperimental ini menggunakan 21 ekor tikus putih betina produktif berumur 3-4 bulan dan dibagi atas tiga kelompok. Kelompok I (K) sebagai kelompok kontrol tanpa ada perlakuan. Kelompok II dan III adalah kelompok perlakuan yang masing-masing diberikan ekstrak oncom hitam (H) sebanyak 0,005 g/g berat badan dan ekstrak oncom merah (M) sebanyak 0,005 g/g berat badan melalui per oral dengan menggunakan alat sonde selama 14 hari. Lama siklus estrus diukur dengan melakukan ulas vagina setiap 12 jam sekali setelah tikus diberikan perlakuan pertama dan selama pemberian perlakuan berlangsung. Tebal endometrium dan jumlah folikel antral diukur dengan cara mengoleksi organ uterus dan ovarium untuk preparasi histologi dengan metode paraffin setelah tikus dikorbankan nyawanya pascapemberian ekstrak selama 14 hari. Data dianalisis dengan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT). Total waktu siklus estrus pada tikus kelompok kontrol adalah selama 107,43±3,16 jam, perlakuan oncom hitam selama 141,43±15,36 jam, dan perlakuan oncom merah selama 161,14±17,10 jam. Rataan tebal endometrium tikus kelompok kontrol adalah 346,945±65,88 µm, perlakuan oncom hitam adalah 485,740±86,69 µm, dan perlakuan oncom merah adalah 533,904±78,93 µm. Jumlah folikel antral ovarium tikus kelompok kontrol adalah 6,00±1,54, perlakuan oncom hitam adalah 8,43±2,99, dan perlakuan oncom merah adalah 9,14±2,72. Hasil analisis tersebut dapat menunjukkan sekaligus ditarik kesimpulan bahwa ekstrak oncom hitam dan merah memiliki pengaruh yang signifikan terhadap lama siklus estrus dan tebal endometrium pada tikus, namun tidak terdapat pengaruh terhadap jumlah folikel antral.

Kata-kata kunci: oncom; siklus estrus; tebal endometrium; jumlah folikel

ABSTRACT

Phytoestrogens are active compounds, derived from plants, which have a similar structure and function as estrogen. Phytoestrogens are commonly found in legumes. Oncom, which is assumed containing phytoestrogens, is one of the most famous legumes food from Indonesia and widely consumed daily in West Java. This study was aimed to determine the effect of oncom extract on estrous cycle, endometrium thickness, and the number of antral follicles in productive age rats (*Rattus novvergicus*). This experimental study was using 21 three-to-four-month-old fertile female rats and divided into three groups. Group I (K) was considered

as a control group without any treatment. Group II and III were treatment groups which were given black (H) and red (M) oncom extracts 0.005 g/g body weight, respectively, orally with a feeding tube for 14 days. The length of the estrous cycle was measured by performing vaginal swab with interval 12 hours after first treatment was given and during the treatment. Endometrium thickness and the number of antral follicles were measured by collecting the organs uterus and ovary for histological purpose with paraffin method after rats were euthanized posttreatment oncom extracts for 14 days. Data were analyzed by ANOVA and continued with LSD test. The total length of estrous cycle of control group, black oncom extract group, and red oncom extract group was 107,43±3,16 hours, 141,43±15,36 hours, and 161,14±17,10 hours, respectively. The mean of endometrium thickness of control group, black oncom extract group, and red oncom extract group was 346,945±65,88 µm, 485,740±86,69 µm, and 533,904±78,93 µm, respectively. The number of antral follicles of control group, black oncom extract group, and red oncom extract group was 6,00±1,54, 8,43±2,99, and 9,14±2,72, respectively. Results showed that black and red oncom extracts had a significant effect on the length of estrous cycle and endometrium thickness in rats, yet there is no significant difference in the number of antral follicles. In summary, black and red oncom extracts had effects on the length of estrous cycle and endometrium thickness, yet there was no effect on the number of antral follicles.

Keywords: oncom; estrous cycles; endometrium thickness; number of ovary follicles

PENDAHULUAN

Beberapa tumbuh-tumbuhan diketahui mengandung senyawa fitoestrogen. Fitoestrogen sangat mirip dengan struktur kimia estrogen mamalia yaitu estradiol dan dapat mengikat reseptor estrogen (Sirotkin dan Harrath, 2014). Konsumsi fitoestrogen secara global telah meningkat baik pada manusia dan hewan karena penambahan leguminosa dalam pakan ternak dan peningkatan diet vegetarian pada manusia (Marquez *et al.*, 2012). Banyak penelitian telah dilakukan mengenai fitoestrogen serta kaitannya dengan reproduksi terutama hormon. Sering kali fitoestrogen diteliti untuk mengatasi masalah gangguan hormonal, dan menjadikannya sebagai sumber hormon eksogen. Fitoestrogen dapat mencegah gejala menopause akibat penurunan hormon estrogen baik pada wanita premenopause dan pascamenopause dengan menghambat produksi estrogen endogen (Sirotkin dan Harrath, 2014).

Fitoestrogen di samping memiliki banyak efek positif seperti yang disebutkan sebelumnya, juga dapat berefek merugikan terutama dalam reproduksi pada kebanyakan spesies hewan. Menurut Marquez *et al.* (2012) fitoestrogen dapat berperan sebagai estrogen agonis dan antagonis sehingga efeknya dapat bermacam-macam mulai dari respons estrogenik yang berlebihan, infertilitas, dan mengganggu perilaku hewan. Lebih jauh lagi, banyak fitoestrogen kini dikenal sebagai *endocrine disruptor compounds* (EDC) yang dapat mengganggu sintesis, sekresi, pengangkutan, pengikatan, aksi, atau eliminasi hormon alami dalam tubuh yang bertang-

gungjawab dalam reproduksi. Konsumsi produk kedelai, yang mengandung kadar tinggi isoflavon juga dapat mengubah perkembangan seksual hewan misalnya mengubah waktu pubertas, mengubah siklus estrus dan fungsi ovarium, serta mengubah fungsi hipotalamus dan pituitari (Sirotkin dan Harrath, 2014).

Fitoestrogen secara alami terdapat dalam buah, sayuran dan biji-bijian. Fitoestrogen sangat melimpah terdapat pada tanaman golongan *Leguminoceae* (Michael *et al.*, 2013) khususnya pada tanaman kedelai mengandung senyawa isoflavon yang cukup tinggi. Kedelai dapat diolah menjadi beberapa produk dan senyawa isoflavon dapat ditemukan juga pada produk-produk olahan tersebut. Salah satu makanan hasil olahan kedelai adalah tahu dimana dalam proses pembuatan tahu terdapat limbah yang dapat diolah menjadi makanan terfermentasi bernama oncom. Oncom adalah salah satu makanan sehari-hari asli Indonesia yang terkenal dan banyak dikonsumsi di Jawa Barat. Terdapat dua jenis oncom, yaitu oncom merah dan oncom hitam. Oncom hitam dibuat dari kacang tanah, sedangkan oncom merah dibuat dari limbah tahu (kedelai), yang pada umumnya masyarakat Jawa Barat selain mengonsumsinya juga menggunakannya sebagai pakan ternak.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak oncom hitam dan merah yang diduga mengandung fitoestrogen terhadap siklus estrus, tebal endometrium, dan jumlah folikel antral tikus putih (*Rattus novvergicus*) usia produktif.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi Oncom

Oncom hitam didapatkan dari pabrik oncom Pasir Reungit, Sumedang, Jawa Barat. Oncom merah didapatkan dari Pasar Anyar, Kota Bogor, Jawa Barat. Masing-masing oncom kemudian dikeringkan dengan cara diangin-angin dan dihaluskan menggunakan *blender*. Oncom yang sudah berbentuk tepung kemudian dimaserasi menggunakan etanol 96% selama 48 jam. Hasil maserasi disaring dengan kertas saring *Whatman* no. 42 sehingga didapat filtrat. Etanol dalam filtrat diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 45°C sampai seluruh pelarut menguap sehingga didapatkan ekstrak kasar (*crude extract*).

Uji Fitokimia Ekstrak Oncom

Setelah ekstrak oncom hitam dan oncom merah didapatkan kemudian dilakukan pengujian fitokimia secara kualitatif untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Udayana. Pemeriksaan senyawa yang dilakukan adalah senyawa terpenoid dengan metode pemeriksaan *Liebermann Burchard*, steroid dengan *Liebermann Burchard*, flavonoid dengan Mg/HCl , alkaloid dengan *wegner*, fenolik dengan $FeCl_3$, saponin dengan air/HCl , dan tanin dengan $FeCl_3 + H_2SO_4$.

Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) galur Wistar sebanyak 21 ekor berumur empat bulan dengan berat badan ± 300 gram. Hewan uji dibagi menjadi tiga kelompok perlakuan yang terdiri dari tujuh ekor tikus dalam setiap kelompok. Kelompok I sebagai kelompok kontrol (K) tidak diperlakukan apapun. Kelompok II dan III adalah kelompok perlakuan, yang masing-masingnya diberikan ekstrak oncom hitam (H) dan merah (M) sebanyak 0,005 g/g berat badan setiap hari melalui per oral dengan menggunakan alat sonde selama 14 hari. Sebelum diberi perlakuan tikus terlebih dahulu diaklimatisasi selama 14 hari di dalam kandang dengan tutup kawat dan alas kandang dilapisi sekam padi secukupnya yang diganti setiap tiga hari sekali di Laboratorium Reproduksi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Pakan dan minum hewan

uji diberikan secara *ad libitum*. Sebelum tahap perlakuan, dilakukan sinkronisasi estrus pada setiap tikus dengan penyuntikan preparat prostaglandin (Capriglandin Inj., ampul 10 ml yang mengandung 5,5 mg Dinoprost tromethamine per 1 ml dari PT. Caprifarmindo, Bandung, Indonesia,) sebanyak satu kali secara intraperitoneal dengan dosis 1.000 $\mu g/kg$ berat badan (Fitrianti dan Wasmen Manalu, 2019).

Pemberian Ekstrak Oncom

Perlakuan pada penelitian ini adalah ekstrak oncom hitam dan merah yang masing-masing diberikan sebanyak 0,005 g/g berat badan. Ekstrak oncom diberikan setiap hari melalui per oral dengan menggunakan alat sonde selama 14 hari berturut-turut.

Pengamatan Siklus Estrus

Siklus estrus ditentukan dengan mengamati hasil ulas vagina dengan pewarnaan Giemsa di Laboratorium Reproduksi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Selama pemberian perlakuan dilakukan, ulas vagina dilakukan dengan menggunakan *cotton bud* sebanyak dua kali sehari, yaitu pada pagi hari (pukul 06.00 WITA) dan malam hari (pukul 18.00 WITA), selama 14 hari. Penentuan fase siklus estrus dilakukan dengan mengamati sel epitel vagina pada hasil ulas vagina menggunakan mikroskop optik (Olympus CX22, Olympus Corporation, Jepang) dengan perbesaran 100 dan 400 kali.

Pengukuran Tebal Endometrium dan Penghitungan Jumlah Folikel

Setelah perlakuan selama 14 hari, hewan tikus percobaan dikorbankan, kemudian organ uterus dan ovarium diambil untuk dibuat preparat histologi. Preparat diamati di bawah mikroskop digital. Tebal endometrium diukur dengan cara melakukan pengukuran pada sepuluh bidang endometrium yang berbeda dalam satu sayatan uterus kemudian dirata-ratakan. Bagian ovarium diamati keberadaan folikelnya dan folikel yang dihitung adalah folikel antral, yaitu folikel yang telah memiliki antrum yang ditandai dengan adanya rongga yang berisi cairan yang berdampingan dengan oosit, yang penelitian ini dimulai dari folikel tersier. Semua folikel antral dihitung dari seluruh ovarium yang dibuat preparat histologi dengan satu sayatan dengan ketebalan 4-5 μm .

Analisis Data

Data yang diperoleh terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas data. Setelah itu dilanjutkan dengan sidik ragam dan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan yang signifikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji fitokimia ekstrak oncom hitam dan oncom merah disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan hasil uji fitokimia, diketahui bahwa ekstrak oncom hitam dan merah sama-sama mengandung terpenoid, steroid, flavonoid, alkaloid, fenolik, dan tanin kecuali pada ekstrak oncom merah. Kedua ekstrak oncom diketahui tidak mengandung senyawa saponin.

Hasil pemeriksaan ulas vagina pada penelitian ini disajikan pada Gambar 1. Rataan fase siklus estrus dan rata-rata total waktu siklus

estrus pada kelompok kontrol dan kelompok yang diberi perlakuan ekstrak oncom hitam, dan merah selama 14 hari disajikan pada Tabel 2.

Total waktu siklus estrus pada kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstrak oncom baik oncom hitam dan oncom merah lebih panjang secara signifikan dibandingkan kelompok tikus kontrol ($p < 0,05$). Fase proestrus dan metestrus pada tikus perlakuan ekstrak oncom hitam dan oncom merah lebih pendek dibandingkan dengan tikus normal, namun tidak berbeda secara signifikan ($p > 0,05$). Fase estrus pada kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstrak oncom hitam dan oncom merah lebih panjang secara signifikan dibandingkan fase estrus kelompok kontrol ($p < 0,05$). Selain itu, ditemukan juga pemendekan fase diestrus pada kelompok perlakuan ekstrak oncom hitam dan oncom merah secara signifikan ($p < 0,05$). Gambar pemeriksaan histologi tebal endometrium disajikan pada Gambar 2. Rataan tebal endometrium tikus putih selama 14 hari

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak oncom hitam dan ekstrak oncom merah

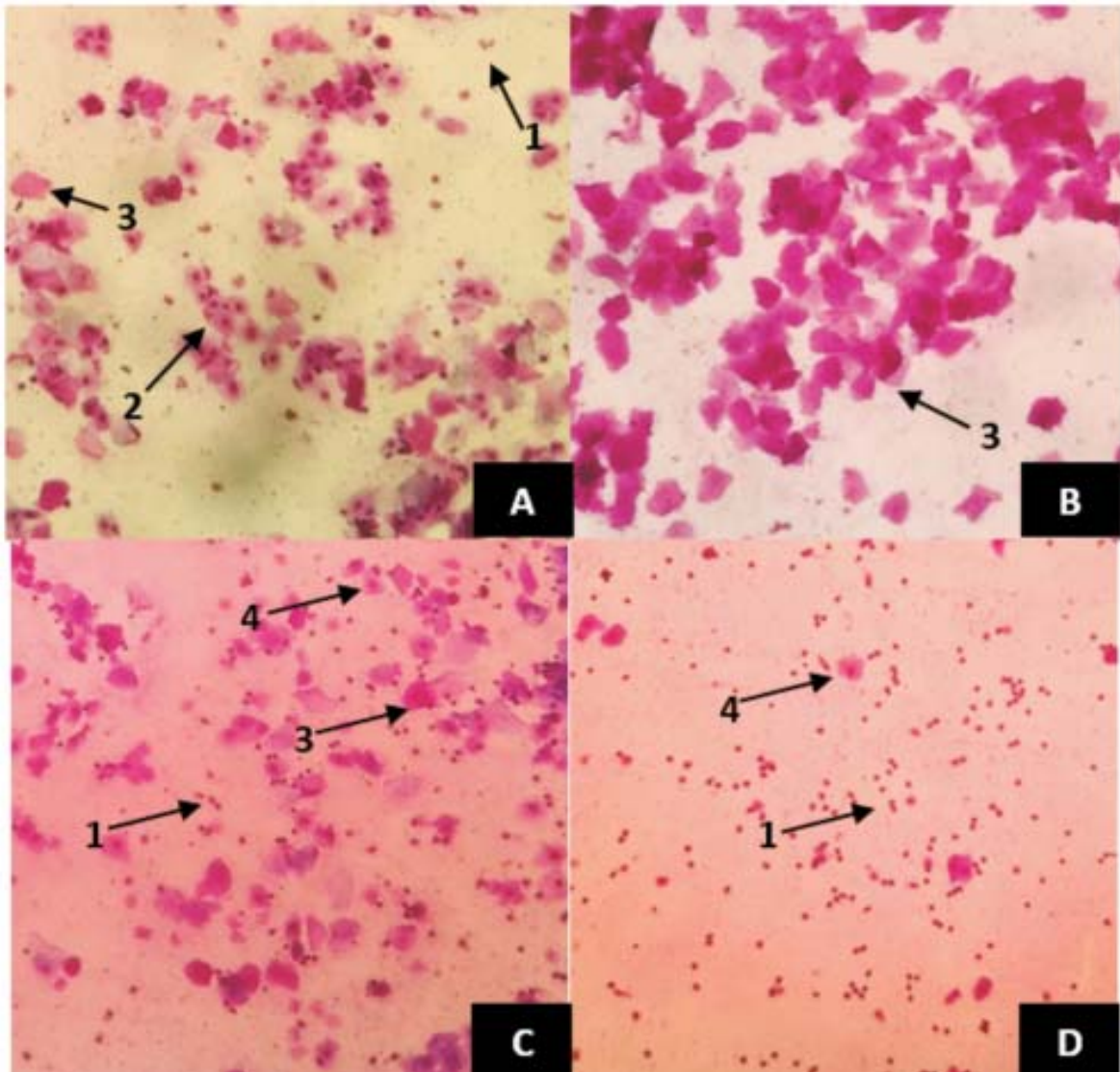
Golongan Senyawa Aktif	Ekstrak Oncom Hitam	Ekstrak Oncom Merah	Keterangan Hasil Positif
Terpenoid	+	+	Terdapat warna ungu
Steroid	+	+	Terdapat warna biru
Flavonoid	+	+	Terdapat warna merah
Alkaloid	+	+	Terdapat endapan putih
Fenolik	+	+	Terdapat warna biru
Saponin	-	-	Terdapat busa stabil
Tanin	-	+	Terdapat warna cokelat

Keterangan: (+) = positif mengandung senyawa; (-) = negatif mengandung senyawa

Tabel 2. Rataan waktu fase siklus estrus dan total waktu siklus estrus tikus percobaan yang memperoleh perlakuan ekstrak oncom merah dan oncom hitam

Fase Siklus Estrus	Waktu (Jam)		
	Tikus Kontrol	Tikus Oncom Hitam	Tikus Oncom Merah
Proestrus	13,71±2,16 ^a	12,00±0,00 ^a	13,71±3,36 ^a
Estrus	17,29±1,89 ^a	67,00±8,90 ^b	114,57±16,93 ^b
Metestrus	22,71±1,18 ^a	19,14±3,99 ^a	17,14±3,99 ^a
Diestrus	53,71±1,58 ^a	23,43±5,03 ^b	18,29±5,16 ^b
Total Waktu Siklus Estrus	107,43±3,16 ^a	141,43±15,36 ^b	161,14±17,10 ^b

Keterangan: Nilai *confidence interval* (CI) 95%; superskrip dalam satu baris yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan pada taraf 5%.



Gambar 1. Gambaran ulas vagina tikus putih pada setiap fase siklus proestrus (A); estrus (B); metestrus (C); diestrus (D); sel polimorfonuklear (PMN) (1); sel epitel berinti/parabasal (2); sel kornifikasi (3); sel epitel berinti/intermediet (4). Pewarnaan Giemsa, perbesaran 100 kali.

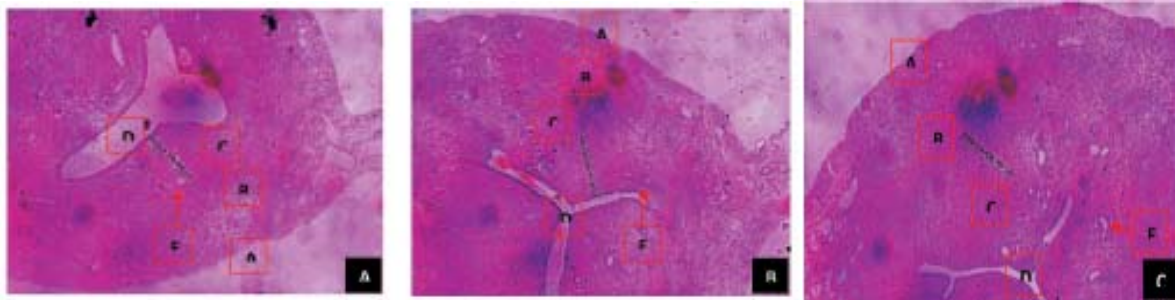
disajikan pada Tabel 3. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak oncom memberikan pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$), namun hasil pada kelompok perlakuan antara ekstrak oncom hitam dan oncom merah tidak memberikan hasil yang signifikan ($p > 0,05$).

Gambar hasil pemeriksaan histologi folikel antral ovarium disajikan pada Gambar 3. Rataan jumlah folikel antral ovarium tikus kelompok kontrol adalah $6,00 \pm 1,54$, perlakuan oncom hitam adalah $8,43 \pm 2,99$, dan perlakuan oncom merah adalah $9,14 \pm 2,72$. Hasil menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh pemberian ekstrak oncom hitam dan oncom merah terhadap jumlah folikel antral ovarium

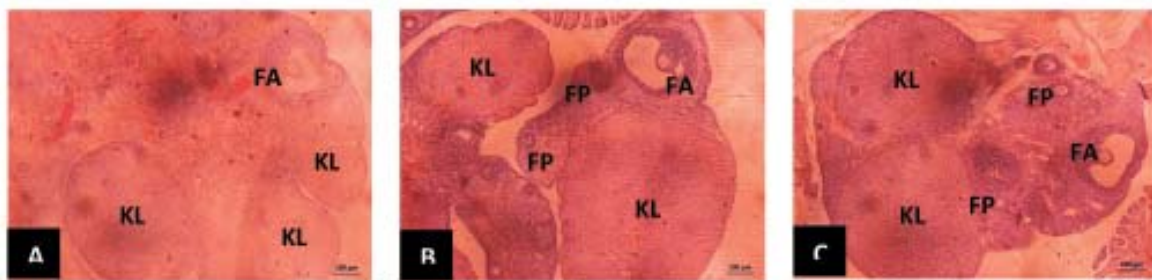
Tabel 3. Rataan tebal endometrium tikus yang diberi perlakuan ekstrak oncom merah dan oncom hitam

Kelompok	Rataan(μ m)
Kontrol	$346,945 \pm 65,88^a$
Oncom Hitam	$485,740 \pm 86,69^b$
Oncom Merah	$533,904 \pm 78,93^b$

Keterangan: Nilai *confidence interval* (CI) 95%; superskrip dalam satu kolom yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan pada taraf 5%.



Gambar 2. Gambaran histologi endometrium tikus kelompok kontrol (A) terlihat lebih tipis dibandingkan dengan kelompok perlakuan ekstrak oncom hitam (B) dan oncom merah (C) Kelenjar lebih banyak ditemukan pada gambaran histologi kelompok perlakuan. (Pewarnaan HE, perbesaran objektif 5 kali). Keterangan: A=Perimetrium; B=Miometrium; C= Endometrium; D=Lumen; dan E=Kelenjar



Gambar 3. Gambaran histologi ovarium menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan jumlah folikel tikus kelompok kontrol (A) dengan kelompok perlakuan ekstrak oncom hitam (B) dan oncom merah (C) (Pewarnaan HE, perbesaran objektif 10 kali). Keterangan: FA= Folikel Antral; FP=Folikel Primer; dan KL=Korpus Luteum

tikus ($p > 0,05$). Berdasarkan Zhang *et al.* (2010), folikel primer (FP) merupakan oosit yang dikelilingi oleh selaput sel granulosa kuboid, folikel sekunder (FS) adalah oosit yang dikelilingi lebih dari satu lapis dari sel granulosa kuboid, folikel antral (FA) diartikan dengan adanya ruang antral dan lapisan sel granulosa cumulus, dan korpus luteum (KL) adalah bentukan setelah ovulasi yang dipenuhi dengan sel lutein.

Hasil positif uji steroid menunjukkan bahwa oncom yang berbahan dasar kacang kedelai (oncom hitam dan oncom merah) memiliki kandungan fitosterol. Fitosterol termasuk ke dalam kelompok steroid alkohol yang strukturnya mirip dengan kolesterol, baik secara struktur dan fisiologisnya, yang terdapat pada tumbuhan secara alami. Sebagai bahan dasar, fitosterol merupakan dua bahan utama untuk memproduksi steroid, salah satunya adalah hormon seks steroid (El-Shemy, 2011). Hormon seks steroid memiliki peranan yang penting dalam pertumbuhan dan diferensiasi jaringan reproduksi dan dalam pemeliharaan fertilitas. Organ reproduksi betina yang mampu

melakukan biosintesis steroid dari kolesterol adalah ovarium. Selain itu, hasil penelitian ini juga diduga adanya pengaruh karena aktivitas estrogenik senyawa aktif fitoestrogen yang terkandung dalam oncom sebagaimana hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak oncom hitam dan ekstrak oncom merah mengandung flavonoid yang termasuk di dalamnya adalah isoflavon.

Hasil penelitian ini sesuai dengan sejumlah penelitian lain yang telah lebih dulu mengevaluasi pengaruh fitoestrogen khususnya genistein dan daidzenin yang merupakan jenis isoflavon yang paling sering dikonsumsi manusia dan hewan dari produk kedelai dan leguminosa. Isoflavon menyebabkan korelasi positif antara kadar estrogen dan panjang siklus estrus pada tikus, semakin tinggi kadar estrogen, semakin panjang siklus estrus (Safrida *et al.*, 2019). Delclos *et al.* (2009) melaporkan tikus mengalami perubahan siklus estrus dan peningkatan waktu siklus estrus setelah diberikan genistein perinatal. Genistein juga mempercepat *onset* estrus persisten dan

membuat siklus estrus menjadi abnormal (Jefferson *et al.*, 2009).

Ketika dibandingkan struktur kimia fitoestrogen dengan 17α -e stradiol maka dapat diketahui fitoestrogen memiliki cincin fenolik yang mirip cincin estrogen pada *receptor binding site*, berat molekul yang sama dengan estrogen (MW = 272), dan jarak antara dua gugus hidroksil yang sama dengan estradiol, serta pola hidroksilasi yang optimal, sehingga menjadi kunci dari struktur elemen fitoestrogen yang dapat berikatan dengan reseptor estrogen dan memberikan pengaruh seperti estrogen (Marquez *et al.*, 2012). Reseptor estrogen ini setelah berikatan dengan fitoestrogen dapat berpindah dari sitoplasma ke nukleus, kemudian berikatan dan memengaruhi daerah kontrol transkripsi DNA dan ekspresi gen (Sirotkin dan Harrath, 2014). Oleh karena itu, fitoestrogen dapat berpotensi memengaruhi semua proses yang diregulasi oleh estrogen. Mekanisme kerja ekstrak oncom yang mengandung isoflavon genistein dan daidzein adalah melalui mekanisme genomik yaitu aktivitas langsung melalui reseptor estrogen. Fitoestrogen langsung berikatan dengan reseptor estrogen dan memengaruhi transkripsi gen sehingga menimbulkan efek estrogenik. Jumlah reseptor estrogen, letak reseptor estrogen, dan konsentrasi estrogen endogen dapat menjadi faktor yang memengaruhi aktivitas estrogenik yang dihasilkan.

Perpendekan fase proestrus pada kelompok perlakuan oncom hitam dapat terjadi karena kandungan fitoestrogen yang terdapat pada oncom. Hal ini terjadi karena fitoestrogen yang berikatan dengan reseptor estrogen menghasilkan peningkatan kadar estrogen dalam darah sehingga merangsang hipotalamus untuk mensekresikan *Gonadotropin Releasing Factor* (GnRF) sehingga hipofisis anterior banyak mensekresikan *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) yang mengakibatkan stimulasi perkembangan folikel. Hasil studi ini didukung dengan hasil fase proestrus yang sama dengan penelitian Mardika *et al.* (2018) yang meneliti siklus estrus pada tikus putih terhadap pemberian ekstrak etanol daun kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.), yang memiliki kandungan fitoestrogen di dalamnya.

Fase estrus yang memanjang pada hasil penelitian ini dapat disebabkan karena adanya isoflavon yang terkandung dalam oncom hitam maupun oncom merah. Studi Safrida *et al.* (2019) menyatakan bahwa isoflavon dalam tepung

tempe dan tepung kedelai memiliki pengaruh terhadap proliferasi epitel vagina dan kornifikasi sel epitel sehingga menyebabkan pemanjangan fase estrus. Pemanjangan fase estrus dapat menguntungkan dalam proses fertilitas karena kondisi tersebut dapat menghasilkan fase kawin yang lebih dan kejadian kawin menjadi lebih tinggi.

Fase diestrus tikus perlakuan mengalami pemendekan dibandingkan tikus kontrol diasumsikan dapat terjadi karena fitoestrogen yang diberikan pada tikus perlakuan. Hal ini dapat terjadi karena pada saat fase diestrus terjadi penurunan estrogen namun tetap berproliferasi kembali karena estrogen dalam darah segera meningkat kembali oleh fitoestrogen yang berasal dari ekstrak oncom yang dikonsumsi. Studi peneliti tersebut juga menyatakan bahwa pemendekan fase diestrus pada tikus yang tidak diovariohisterektomi memberikan keuntungan karena fase tersebut berpotensi dalam fertilitas (Safrida *et al.*, 2019). Jika dilihat kembali, total waktu siklus estrus kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstrak oncom merah lebih panjang dari kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstrak oncom hitam. Hal ini menimbulkan dugaan bahwa kandungan senyawa aktif isoflavon maupun fitosterol yang terdapat dalam ekstrak oncom merah lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak oncom hitam. Perbedaan dosis fitoestrogen yang diberikan memiliki pengaruh terhadap efek pada tubuh yaitu tingginya fitoestrogen dapat menyebabkan hambatan pengaruh estrogen itu sendiri (Maheshwari *et al.*, 2016).

Pada Gambar 2, disajikan bahwa gambaran histologi endometrium uterus tikus menunjukkan bahwa ketebalan endometrium kelompok perlakuan lebih tebal dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$). Selain itu, kelenjar banyak ditemukan pada gambaran histologi kelompok perlakuan. Kemampuan fitoestrogen dalam ekstrak oncom untuk berikatan dengan reseptor estrogen menstimulasi proliferasi sel sehingga terjadi penebalan endometrium. Fitoestrogen juga diketahui memiliki kemiripan dengan estrogen dalam aktivitasnya, salah satunya *uterotrophic*, yaitu dapat meningkatkan massa uterus dan penebalan endometrium (Santos *et al.*, 2010).

Peningkatan ketebalan endometrium disebabkan oleh adanya senyawa aktif dari ekstrak oncom hitam dan ekstrak oncom merah yaitu isoflavon genistein dan daidzein yang memengaruhi ketebalan jaringan endometrium. Ini

sejalan dengan hasil penelitian Santos *et al.* (2010) bahwa isoflavon kedelai dapat meningkatkan ketebalan endometrium karena fitoestrogen dapat menempati reseptor estrogen sebagaimana meskipun fitoestrogen bukan hormon namun mampu menimbulkan efek seperti estrogen endogen.

Studi Hiola *et al.* (2010) menyatakan bahwa pemberian fitosterol, yang terkandung dalam oncom, secara eksogen dapat menyebabkan peningkatan steroidogenesis pada hewan coba. Hasil pada studi eksperimental tersebut menunjukkan bahwa fitosterol menyebabkan peningkatan berat testis dan epididimis. Akibatnya, hormon steroid pada hewan coba ada dalam jumlah yang lebih banyak dibandingkan tanpa pemberian fitosterol. Dampak fitosterol dalam peningkatan steroidogenesis terhadap peningkatan ketebalan uterus dapat terjadi karena adanya peningkatan sintesis protein pada sel-sel organ reproduksi. Sintesis mRNA pada sel-sel terjadi peningkatan dan akhirnya berdampak terhadap peningkatan sintesis protein pada sel-sel target tersebut (Hiola *et al.*, 2010).

Estrogen memberikan efek yang mendominasi selama fase folikuler. Estrogen menstimulasi proliferasi sel endometrium dengan mekanisme aktivasi positif tidak langsung dari ikatan estrogen dan reseptor estrogen. Estrogen berikatan dengan reseptor estrogen alfa pada stroma. Faktor parakrin selanjutnya menjadi aktif dan menginduksi mitosis sel epitel. *Growth factor (insulin-like growth factor 1/IGF-1, epidermal growth factor/EGF, transforming growth factor- α /TGF- α)* yang terinduksi oleh transkripsi gen kemudian mendorong proliferasi sel-sel endometrium. Poliferasi sel mengakibatkan peningkatan ketebalan endometrium.

Hasil penghitungan jumlah folikel antral menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antara kelompok tikus kontrol dan perlakuan ekstrak oncom. Namun, kelompok perlakuan oncom memiliki jumlah folikel antral yang lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol. Pengaruh pemberian ekstrak oncom hitam dan oncom merah terhadap jumlah folikel antral tersebut dapat terjadi karena beberapa kemungkinan. Pertama, fitoestrogen dalam ekstrak oncom menekan perkembangan folikel sehingga folikel tetap berada pada tahap primer dan tidak berkembang menjadi folikel pada tahap selanjutnya, dengan demikian jumlah folikel yang telah berantrum tidak bertambah. Hal ini

didukung oleh penelitian Mardiaty dan Sitasiwi (2008) bahwa pemberian tepung kedelai yang mengandung fitoestrogen dalam waktu yang lama ternyata tidak memberikan perbedaan yang signifikan antara jumlah folikel ovarium tikus kontrol dan tikus perlakuan; Kedua, perkembangan folikel ovarium dikendalikan oleh banyak faktor di antaranya gonadotropin dan hormon steroid. *Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH)* disekresikan oleh hipotalamus, bertugas menstimulasi sekresi FSH dan LH yang bertanggungjawab dalam pematangan folikel ovarium dan sekresi estrogen. Estrogen menstimulasi kelenjar pituitari untuk mensekresikan LH hingga folikel matang dan terjadi ovulasi. Korpus luteum yang terbentuk kemudian mensekresikan sedikit estrogen dan banyak progesteron. Keberadaan estrogen dan progesteron menjadikan FSH dan LH menurun kemudian korpus luteum berdegenerasi sehingga estrogen dan progesteron pun menurun. Dalam keadaan estrogen dan progesteron sedikit, FSH dan LH tidak lagi terhambat sehingga siklus dan perkembangan folikel dimulai kembali (Sakran *et al.*, 2016). Meskipun estrogen alami telah menurun, namun pemberian perlakuan ekstrak oncom secara terus menerus yang mengandung fitoestrogen dan dapat berikatan dengan reseptor estrogen mengakibatkan aktivitas estrogenik terus berlangsung sehingga memberikan efek umpan balik negatif yaitu menghambat produksi FSH dan LH yang mengakibatkan proses perkembangan folikel selanjutnya terganggu. Hal ini didukung oleh Biben (2012) bahwa fitoestrogen dapat memperpanjang fase folikuler, sedangkan FSH dan LH menurun. Namun demikian, meskipun telah berikatan dengan reseptor estrogen, fitoestrogen memiliki aktivitas estrogenik yang lemah jika dibandingkan dengan estrogen alami (Marquez *et al.*, 2012), sehingga tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara tikus kontrol dan tikus yang diberikan perlakuan; Ketiga, gambaran histologi folikel ovarium ketiga kelompok tikus menunjukkan terdapat folikel primer, folikel berantral, dan korpus luteum. Keberadaan beberapa korpus luteum menandakan folikel berantrum dalam ovarium telah mengalami ovulasi. Hal ini juga bisa menjadi faktor lain folikel berantrum yang ditemukan lebih sedikit. Menurut Mastuti dan Ciptono (2017), FSH menyebabkan sel-sel granulosa yang terdapat di dalam folikel meningkat dan menghasilkan estrogen. Estrogen juga merangsang folikel

ovarium menjadi matang dengan menstimulasi GnRH untuk memproduksi LH hingga folikel matang dan terjadi ovulasi. Setelah terjadi ovulasi maka folikel akan berubah menjadi korpus luteum; Keempat, meskipun telah dilakukan sinkronisasi estrus dengan penyuntikan prostaglandin, namun ternyata tidak terjadi keserentakan siklus estrus sehingga kemungkinan pengambilan organ ovarium terjadi pada fase siklus estrus yang berbeda-beda dari setiap tikus putih yang berpengaruh pada jumlah folikel ovarium. Tidak berpengaruhnya prostaglandin eksogen yang diberikan pada saat sinkronisasi estrus kemungkinan karena tikus berada dalam fase folikuler sehingga tidak terdapat korpus luteum yang menjadi sasaran prostaglandin sebagaimana mekanisme kerja prostaglandin adalah dengan cara luteolisis yang menyebabkan regresi korpus luteum. Penyuntikan prostaglandin yang hanya satu kali menjadi kemungkinan kedua yang menyebabkan tidak terjadinya estrus yang serentak karena keberagaman fase siklus estrus setiap individu tikus putih yang berbeda.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak oncom hitam dan oncom merah memberikan pengaruh yang signifikan terhadap lama siklus estrus dan tebal endometrium pada tikus, namun tidak terdapat pengaruh yang signifikan terhadap jumlah folikel antral ovarium tikus.

SARAN

Oncom hitam dan oncom merah dapat direkomendasikan untuk dikonsumsi oleh individu yang mengalami kekurangan estrogen seperti pada kasus ternak *silent heat* atau wanita menopause pada manusia. Penelitian lebih lanjut disarankan mengenai seberapa banyak atau kadar pemberian oncom sehingga menimbulkan efek negatif dalam reproduksi. Selain itu, penelitian lanjutan mengenai pengaruh pemberian oncom terhadap reproduksi juga disarankan terhadap tikus prapubertas dan tikus diovariectomi. Pemberian atau konsumsi oncom dalam jumlah banyak pada hewan atau manusia dengan estrogen normal secara terus-menerus perlu diperhatikan kembali karena fitoestrogen yang terkandung dalam oncom

dapat berpengaruh agonis dan antagonis menyesuaikan kondisi setiap individu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Reproduksi Veteriner dan Kepala Laboratorium Histologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana atas fasilitas penelitian dan dukungan yang diberikan kepada penulis.

DAFTAR PUSTAKA

- Biben HA. 2012. Fitoestrogen: Khasiat terhadap Sistem Reproduksi, Non-Reproduksi dan Keamanan Penggunaannya. Seminar Ilmiah Nasional Estrogen sebagai Sumber Hormon Alami, Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia, 31 Maret 2012.
- Delclos KB, Weis CC, Bucci TJ, Olson G, Mellick P, Sadovova N, Latendresse JR, Thorn B, Newbold RR. 2009. Overlapping but Distinct Effect of Genistein and Ethinyl Estradiol (EE2) in Female Sprague-Dawley Rats in Multigenerational Reproductive and Chronic Toxicity Studies. *Reproductive Toxicology* 27: 117-132.
- El-Shemy H. 2011. *Soybean and Health*. Rijeka, Croatia: InTech. Hlm.. 231-235.
- Fitrianti-, Wasmen W. 2019. Efektivitas Penyuntikan Prostaglandin F2 α Satu Kali dan Dua Kali untuk Sinkronisasi Estrus pada Tikus Putih (*Rattus sp.*). Bogor. Institut Pertanian Bogor. Kontak dengan penulis.
- Hiola StF, Adnan, Bahri A. 2010. Pengaruh Fitosterol Tumbuhan Lamun (*Enhalus acoroides*) terhadap Fertilitas Mencit (*Mus musculus*) ICR Jantan. *Bionature* 11(1): 1-6.
- Jefferson WN, Doerge D, Padilla-Banks E, Woodling KA, Kissling GE, Newbold R. 2009. Oral Exposure to Genistein, the Glycosylated Form of Genistein, during Neonatal Life Adversely Affects the Female Reproductive System. *Environmental Health Perspectives* 117: 1883-1889.
- Maheshwari H, Satyaningtjas AS, Harlina E, Cahyaningsih U, Effendi M, Mustofa MA,

- Bekalani YK. 2016. The Role of Fennel Infusion on Estrous Cycle and Follicles Development of White Rats. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 14(1): 19-25.
- Mardiati SM, Sitasiwi AJ. 2008. Korelasi Jumlah Folikel Ovarium dengan Konsentrasi Hormon Estrogen Mencit (*Mus musculus*) setelah Konsumsi Harian Tepung Kedelai selama 40 hari. *Buletin Anatomi dan Fisiologi* 16(2): 54-59.
- Mardika K, Setyawati I, Darmadi AAK. 2018. Panjang Siklus Estrus dan Struktur Histologi Ovarium Tikus Putih Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kaliandra Merah. *Jurnal Veteriner* 19(3): 342-350.
- Marquez SR, Flores J, Hernandez H, Fernandez I. 2012. Effect of Phytoestrogen on Mammalian Reproductive Physiology. *Tropical and Subtropical Agroecosystem* 15(2012) Supl. 1: S129-S145.
- Mastuti RQD, Ciptono. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris*, L) terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*, L). *Jurnal Prodi Biologi* 6(3): 131-141.
- Michael T, Halabaki M, Skaltsounis AL. 2013. New Concepts, Experimental Approaches, and Dereplication Strategies for the Discovery of Novel Phytoestrogen from Natural Sources. *Planta Med* 79: 514-532.
- Safrida, Solihin DD, Sabri M. 2019. Correlation between estrogen hormone concentration and estrous cycle of rat fed soybean flour and tempeh flour. *Jurnal Kedokteran Hewan* 13(1): 25-31.
- Sakran AMEA, Faragalla HEH, Ibrahim AY, Alkushi AG, Mithani AKC, Khalfalla MAE. 2016. Effect of Fenureek Seeds on Rats Ovary: Histology Study. *Int J Anat Res* 4(1): 1945-1953.
- Santos ET, Dutra, Sampaio MDD, Cecon PR, Simoes MJ, Ferreira SMGF, Castello GMJBC. 2010. Effects of Soy Isoflavon on the Uterus and Urethra of Ovarioectomized Rats. *International Urogynecology Journal* 21: 111-116.
- Sirotkin AV, Harrath AH. 2014. Phytoestrogen and Their Effects. *European Journal of Pharmacology* 741(92014): 230-236.
- Zhang XL, Fu YC, Xu JJ, Kong XX, Chen ZG, Luo LL. 2010. Effects of genistein on ovarian follicular development and ovarian life span in rats. *Fitoterapia* 81: 998-1002.