

The Effect of Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Leaf Extract on The Growth of Mice (*Mus Musculus*) Ovarian Follicles

Mawaddah Fatin Nuradiyah^{1*}, I Wayan Merta¹, Kusmiyati¹

¹ Biology Education, Faculty of Teacher Training and Education, University of Mataram, Indonesia.

Received:
Revised:
Accepted:
Published:

Corresponding Author:
Author Name*:
Email*:

DOI:

© 2023 The Authors. This open access article is distributed under a (CC-BY License)



Phone*: +62...

Abstract: Daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) mengandung senyawa fitoestrogen berupa flavonoid, isoflavonoid, saponin, dan tanin, serta mengandung senyawa alkaloid. Fitoestrogen adalah senyawa yang terkandung dalam tumbuhan, memiliki struktur kimia menyerupai 17β -Estradiol yang merupakan estrogen alami tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) terhadap pertumbuhan folikel ovarium mencit (*Mus musculus*), yang terdiri dari folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, dan folikel *de Graaf*, serta corpus luteum. Metode penelitian ini adalah *true experiment* dan *Posstest-Only Control* dengan pendekatan kuantitatif. Pengambilan sampel dilakukan secara random (*random sampling*) dengan rancangan penelitian yaitu rancangan acak kelompok (RAK). Pertumbuhan folikel ovarium mencit diketahui dengan cara menghitung jumlah folikel ovarium mencit yang dianalisis menggunakan metode analisis uji ANOVA (*Analysis Of Variance*) satu arah (*One Way*) pada taraf signifikansi 5% ($\alpha = 0,05$), kemudian jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf signifikansi 5% ($\alpha = 0,05$). Analisis data menggunakan Microsoft Excel 2010. Hasil uji hipotesis menggunakan *One Way* ANOVA menyatakan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ pada jumlah folikel primer dan corpus luteum, yang berarti terdapat perbedaan nyata dan H_a diterima. Hasil uji hipotesis pada jumlah folikel sekunder, tersier, dan *de Graaf* menyatakan bahwa $F_{hitung} < F_{tabel}$, yang berarti tidak terdapat perbedaan nyata dan H_a ditolak. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu ekstrak daun tapak dara berpengaruh secara signifikan terhadap pertumbuhan folikel primer dan corpus luteum, tetapi tidak berpengaruh secara signifikan terhadap pertumbuhan folikel sekunder, tersier, dan folikel *de Graaf*.

Keywords: Fitoestrogen, ekstrak daun tapak dara, pertumbuhan folikel ovarium.

Introduction

Fitoestrogen berupa molekul yang berasal dari tumbuhan yang dapat berinteraksi dengan reseptor estrogen (ERs) atau memodulasi aksi hormon estrogen

secara *in vivo*. Senyawa kelompok fitoestrogen memiliki kemampuan untuk mengikat reseptor estrogen, dengan demikian mengganggu sistem endokrin dalam tubuh pada berbagai spesies termasuk tikus, manusia, dan ikan. Fitoestrogen dapat berinteraksi dengan enzim dan

How to Cite:

Example: Susilawati, S., Doyan, A., Mulyadi, L., & Hakim, S. (2019). Growth of tin oxide thin film by aluminum and fluorine doping using spin coating Sol-Gel techniques. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 1(1), 1-4. <https://doi.org/10.29303/jppipa.v1i1.264>

reseptor karena struktur stabil dan berat molekul rendah, sehingga dapat melewati membran sel (Primiani dan Pujiati, 2018). Kemampuan fitoestrogen meniru efek estrogen didasarkan oleh keberadaan senyawa dengan berat molekul setara dengan berat molekul estrogen (272 g/mol), cincin fenolik sebagai *binding site* dan memiliki inti dengan dua gugus hidroksil dengan jarak 11,0-11,5Å. Fitoestrogen dapat mempengaruhi siklus ovarium seperti pertumbuhan dan perkembangan folikel telur (Whitten & Patisaul, 2001).

Hasil skrining fitokimia daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid (Putri & Nasution, 2022). Dalam Satyaningtijas dkk. (2014) flavonoid mempunyai efek estrogenik yaitu dapat bekerja seperti estrogen dengan cara menduduki reseptor estrogen. Pada ovarium, estrogen akan menduduki reseptor estrogen α dan β , sedangkan pada uterus akan menduduki reseptor estrogen α sehingga pada ovarium dan uterus terjadi proliferasi.

Fitoestrogen dapat menyebabkan estrogen alami tidak dapat berikatan dengan reseptornya dan akan meningkatkan jumlah estrogen bebas dalam darah (Liu dkk., 2013). Kadar estrogen yang tinggi di dalam darah dapat menyebabkan sekresi FSH (*Folicle Stimulating Hormone*) terhambat sehingga pertumbuhan dan perkembangan folikel di dalam ovarium juga terhambat (Rejeki dkk., 2017).

Senyawa golongan saponin, tanin, flavonoid, terpenoid, alkaloid, sterol, serta triterpenoid dapat menekan tingkat fertilitas dengan cara mengganggu fungsi ovarium, uterus atau vagina (Setyowati dkk., 2015). Menurut Kumar dkk. (2017), kandungan flavonoid dan saponin mengakibatkan kenaikan estrogen dan aktivitas antifertilitas. Udoh (2005) menyatakan bahwa bahan antifertilitas triterpenoid dan saponin bekerja pada aksis hipotalamus, hipofisis, dan gonad sehingga mempengaruhi sekresi hormon gonadotropin. Saponin secara langsung menghambat kerja gen yang berperan dalam steroidogenesis dan menekan perkembangan sel dalam ovarium yang di atur oleh *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) (Francis dkk., 2002).

Menurut Gouado dkk. (2007), bahan antifertilitas yang bekerja pada poros hipotalamus-hipofisis-ovarium mempunyai aktivitas gonadotropin, dengan mekanisme umpan balik negatif dari hipotalamus yang menyebabkan penurunan produksi GnRH (*Gonadotrophin Releasing Hormone*). Hal ini akan berpengaruh pada sekresi FSH dan LH dari hipofisis anterior, sehingga sekresi FSH dan LH rendah, dimana kedua hormon ini sangat berpengaruh pada pembentukan, perkembangan, dan pematangan folikel

ovarium serta proses ovulasi. Meskipun begitu, penggunaan fitoestrogen dalam dunia kesehatan menurut Biben (2012) dan Irianto (2014) masih menimbulkan banyak pro dan kontra. Hal ini dikarenakan efek dosis serta tingkat afinitas fitoestrogen dalam tubuh hewan uji masih belum dipastikan. Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun tapak dara yang mengandung fitoestrogen terhadap pertumbuhan folikel ovarium mencit dengan menggunakan hewan uji berupa mencit (*Mus musculus*) betina galur Balb/C. Penggunaan daun tapak dara dalam penelitian ini karena mudah ditemukan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh ekstrak daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) terhadap pertumbuhan folikel ovarium mencit (*Mus musculus*).

Method

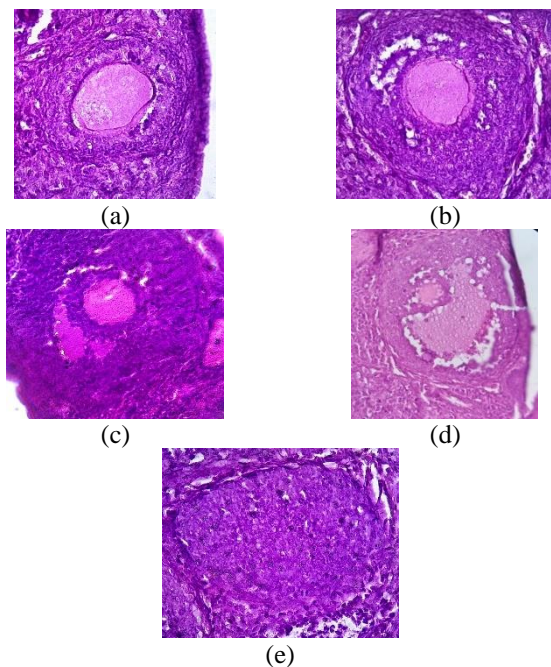
Metode penelitian ini adalah *true experiment* dan *Posstest-Only Control* dengan pendekatan kuantitatif. Pengambilan sampel dilakukan secara random (*random sampling*) dengan rancangan penelitian yaitu rancangan acak kelompok (RAK). Pertumbuhan folikel ovarium mencit dianalisis menggunakan metode analisis uji ANOVA (*Analysis Of Variance*) satu arah (*One Way*) pada taraf signifikansi 5% ($\alpha = 0,05$), kemudian jika terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf signifikansi 5% ($\alpha = 0,05$). Analisis data menggunakan Microsoft Excel 2010.

Pembuatan preparat histologis ovarium mencit menggunakan metode paraffin dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Pembuatan ekstrak daun tapak dara dengan metode maseri. Maserasi adalah metode ekstraksi yang bertujuan untuk menghindari rusaknya senyawa aktif yang terkandung dalam sampel karena pemanasan. Pelarut yang digunakan adalah etanol 95%. Snyder (1997) menyatakan bahwa etanol merupakan pelarut universal yang mampu menarik senyawa-senyawa polar dan non polar dengan indeks polaritas sebesar 5,2.

Penelitian ini terdiri dari 5 kelompok, terdapat satu kelompok kontrol (K0) yang diberikan NaCl 0,9% dan empat kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun tapak yaitu K1 (dosis 50 mg/kgBB), K2 (dosis 100 mg/kgBB), K3 (dosis 150 mg/kgBB), dan K4 (dosis 200 mg/kgBB). Pemberian perlakuan secara oral menggunakan jarum *gavage* (jarum sonde) selama 14 hari yang dimulai pada fase diestrus mencit. Total sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor mencit betina galur Balb/C fertil, berumur sekitar 8 minggu, dan memiliki berat badan 20-30 gram.

Result and Discussion

Hasil penelitian pemberian ekstrak daun tapak dara terhadap pertumbuhan folikel ovarium mencit dapat dilihat dengan cara menghitung jumlah folikel ovarium mencit yang terdiri dari folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, folikel *de Graaf*, hingga akhirnya sisa-sisa dari folikel *de Graaf* akan membentuk struktur yang disebut corpus luteum. Data ini diperoleh dari pengamatan mikroskopis sediaan preperat histologis ovarium mencit (*Mus musculus*) pada perbesaran 1000x menggunakan mikroskop merk Olympus.



Gambar 1. Hasil Pengamatan Preperat Histologis Ovarium Mencit dengan Pewarnaan HE Perbesaran 1000x. (a) Folikel Primer, (b) Folikel Sekunder, (c) Folikel Tersier, (d) Folikel *de Graaf*, (e) Corpus Luteum.

Gambar 1 menunjukkan jenis-jenis folikel ovarium yang terdiri dari folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, folikel *de Graaf*, dan juga corpus luteum yang merupakan sisa-sisa dari folikel *de Graaf* yang sudah mengalami ovulasi dari proses luteonisasi. Folikel primer ditemukan di daerah korteks ovarium yang ditandai dengan oosit dan zona pelusida yang dikelilingi oleh satu lapis sel granulosa kuboid dan satu lapisan luar sel pipih. Folikel sekunder berada di seluruh ovarium yang ditandai dengan oosit dikelilingi oleh beberapa lapis sel granulosa kuboid. Folikel tersier juga berada di seluruh ovarium yang ditandai dengan oosit dikelilingi oleh beberapa lapis sel granulosa kuboid dan berkembangnya antrum (Scudamore, 2014). Pada folikel *de Graaf*, ukuran antrum bertambah karena

akumulasi cairan folikel dan oosit melekat pada dinding folikel melalui cumulus oophorus sel granulosa. Karena sel granulosa pada dinding folikel tidak mengalami multiplikasi sebanding dengan pertumbuhan antrum, lapisan granulosa menjadi lebih tipis. Setelah ovulasi, sel-sel granulosa dan theca interna folikel ovarium menyusun diri membenfuk suatu kelenjar endokrin sementara disebut corpus luteum (Mescher, 2009).

Pembuatan ekstrak perlu diperhatikan persentase rendemen. Rendemen merupakan perbandingan antara hasil banyaknya metabolit yang didapatkan setelah proses ekstraksi dengan berat sampel yang digunakan. Persyaratan Farmakope Herbal Indonesia, yaitu rendemen tidak kurang dari 7,2% (Depkes RI, 2008). Perhitungan rendemen ekstrak dengan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{jumlah berat ekstrak kental (g)}}{\text{jumlah berat kering simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{46,52 \text{ gram}}{300 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = 0,155 \times 100\%$$

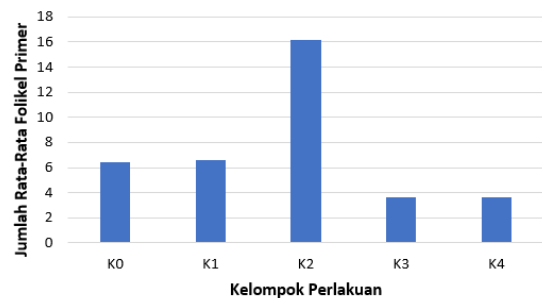
$$\% \text{ Rendemen} = 15,5\%$$

Hasil rendemen ekstrak daun tapak dara yang diperoleh adalah 15,5% yang artinya kualitas ekstrak daun tapak dara baik.

Data hasil pengamatan pertumbuhan folikel primer dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 2.

Tabel 1. Deskripsi Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Pertumbuhan Folikel Primer Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Kelompok	Banyak Mencit	Mean	Std Deviasi	Minimal	Maximum
Kelompok Kontrol	5	6,4	1,8165902	4	8
Dosis 50 mg/kgBB	5	6,6	2,7018512	4	10
Dosis 100 mg/kgBB	5	16,2	2,9495762	13	21
Dosis 150 mg/kgBB	5	3,6	1,5165751	2	6
Dosis 200 mg/kgBB	5	3,6	1,1401754	2	5



Gambar 2. Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Pertumbuhan Folikel Primer Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Berdasarkan tabel 1 dan gambar 2 dapat dilihat bahwa jumlah rata-rata folikel primer yang paling tinggi terdapat pada kelompok perlakuan 2 (100 mg/kgBB) dan jumlah rata-rata folikel primer yang paling rendah

berada pada kelompok perlakuan 3 dan 4 (150 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB).

Uji ANOVA One Way menunjukkan F hitung (26,39139) > F tabel dengan $\alpha = 0,05$ (3,00691728). Ini menunjukkan bahwa jumlah folikel primer ovarium mencit berbeda sangat nyata pada setiap kelompok, sehingga ada pengaruh pemberian ekstrak daun tapak dara terhadap jumlah folikel primer ovarium. Uji One Way ANOVA pertumbuhan folikel primer ovarium mencit dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Uji One Way ANOVA Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara Terhadap Pertumbuhan Folikel Primer Ovarium Mencit

TABEL ANOVA RAK

SK	DB	JK	KT	F hitung	F tabel		Ket
					0,05 (F 5%)	0,01 (F 1%)	
Perlakuan	4	539,44	134,86	26,39139	3,00691728	4,772578	**
Blok/Kelompok	4	9,84	2,46	0,481409	3,00691728	4,772578	TN
Galat/Sisa	16	81,76	5,11				
Total	24	631,04					

Diketahui ada pengaruh ekstrak daun tapak dara terhadap pertumbuhan folikel primer ovarium mencit, kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui apakah rata-rata dua perlakuan berbeda secara statistik atau tidak. Uji BNT pertumbuhan folikel primer ovarium mencit dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Uji BNT tentang Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara Terhadap Pertumbuhan Folikel Primer Ovarium Mencit

Rumus Uji BNT	sd	T 5%	BNT
$sd = \sqrt{(2 * KTGalat) / ulangan}$	0,639	1,746	1,11562

PERLAKUAN	MEAN	MEAN + BNT	NOTASI
K3	3,6	4,715619876	a
K4	3,6	4,715619876	a
K0	6,4	7,515619876	b
K1	6,6	7,715619876	b
K2	16,2	17,31561988	c

Data jumlah folikel primer ovarium berbeda sangat nyata pada setiap perlakuan. Berdasarkan uji BNT, dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun tapak dara pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 (50 mg/kgBB), kelompok perlakuan 3 (150 mg/kgBB) dan kelompok perlakuan 4 (200 mg/kgBB) berbeda dengan kelompok perlakuan 2 (100 mg/kgBB). Data ini menunjukkan bahwa jumlah folikel primer tertinggi berada pada dosis 100 mg/kgBB, sedangkan yang paling rendah berada pada dosis 150 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB.

Benassayag dkk. (2002) menjelaskan bahwa efek estrogenik yang dihasilkan oleh fitoestrogen adalah 102 hingga 103 kali lebih rendah dibandingkan efek

estrogenik dari 17 β -estradiol yang merupakan estrogen endogen dalam tubuh. Cederroth dkk. (2007) juga menyatakan afinitas fitoestrogen terhadap reseptor estrogen lebih rendah jika dibandingkan dengan estrogen. Jumlah folikel primer pada dosis 50 mg/kgBB tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol, sehingga diduga afinitas fitoestrogen terhadap reseptor estrogen masih rendah. Penelitian yang dilakukan oleh Fernandez dkk. (2015) menyatakan fitoestrogen yang terkandung dalam ekstrak daun ekor naga dengan dosis 50 mg/kgBB masih memiliki afinitas yang rendah terhadap reseptor sehingga efeknya terhadap FSH masih terlalu rendah.

Pemberian fitoestrogen 100 mg/kgBB memiliki jumlah rata-rata folikel primer paling tinggi, diduga hal ini terjadi karena afinitas fitoestrogen yang cukup tinggi terhadap reseptor estrogen (17- β estradiol), bisa berikatan dengan reseptor estrogen dan memiliki mekanisme kerja mirip dengan estrogen. Hormon estrogen bekerja secara umpan balik negatif yaitu menghambat sekresi FSH, sehingga pertumbuhan dan perkembangan folikel juga terhambat, oleh sebab itu jumlah rata-rata folikel primer pada dosis 100 mg/kgBB tinggi, karena tidak dapat berkembang ke tahap folikel selanjutnya.

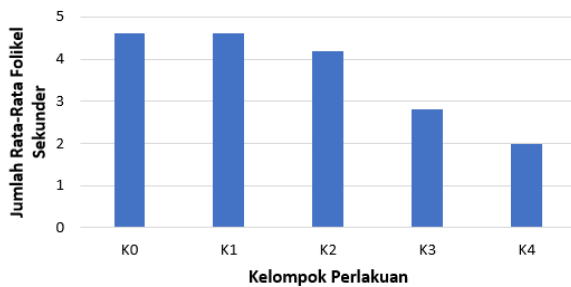
Fernandez dkk. (2015) juga melaporkan bahwa pada dosis 150 mg/kgBB memiliki konsentrasi fitoestrogen yang tinggi sehingga dapat merusak membran sel. Kerusakan membran sel membuat reseptor estrogen yang berada di membran sel rusak, sehingga fitoestrogen tidak dapat berikatan dengan reseptornya yang membuat kadar estrogen dalam darah terlalu tinggi. Sherwood (2007) menjelaskan estrogen yang dikeluarkan ke dalam darah menghambat hipotalamus dan hipofisis anterior secara umpan balik negatif. Estrogen menurunkan kepekaan sel yang menghasilkan hormon-hormon gonadotropik, khususnya sel penghasil FSH.

Fitoestrogen menunjukkan afinitas yang tinggi pada reseptor estrogen (ER = *Estrogen Receptor*) β . Duursen (2017) melaporkan Er β telah terbukti menangkalkan proliferasi reseptor estrogen (ER = *Estrogen Receptor*) α . Era berperan dalam meningkatkan proliferasi sel yang bergantung pada estrogen. Mescher (2009) menyatakan bahwa proliferasi sel granulosa menyebabkan terdapat lebih banyak lapisan sel-sel granulosa pada folikel yang menunjukkan terjadinya perkembangan folikel ovarium. Berdasarkan hal tersebut, ekstrak daun tapak dara dengan dosis tinggi (150 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB) dapat menurunkan jumlah folikel primer ovarium. Kemungkinan hal ini terjadi karena Er β menyebabkan proliferasi sel granulosa folikel ovarium terhambat sehingga mengalami kerusakan.

Data hasil pengamatan pertumbuhan folikel sekunder dapat dilihat pada tabel 4 dan gambar 3.

Tabel 4. Deskripsi Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Pertumbuhan Folikel Sekunder Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Kelompok	Banyak Mencit	Mean	Std Deviasi	Minimal	Maximum
Kelompok Kontrol	5	4,6	1,14017543	3	6
Dosis 50 mg/kgBB	5	4,6	2,88097206	2	9
Dosis 100 mg/kgBB	5	4,2	1,64316767	2	6
Dosis 150 mg/kgBB	5	2,8	0,83666003	2	4
Dosis 200 mg/kgBB	5	2	1,22474487	1	4



Gambar 3. Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Pertumbuhan Folikel Sekunder Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Berdasarkan tabel 4 dan gambar 3 dapat dilihat bahwa jumlah rata-rata folikel sekunder yang paling tinggi terdapat pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1 (50 mg/kgBB) dan jumlah rata-rata folikel sekunder yang paling rendah berada pada kelompok perlakuan 4 (200 mg/kgBB).

Uji ANOVA One Way menunjukkan F hitung (2,047198) < F tabel dengan $\alpha = 0,05$ (3,00691728). Ini menunjukkan bahwa jumlah folikel sekunder ovarium tidak berbeda nyata pada setiap perlakuan, meskipun tidak berbeda nyata, tetap terdapat perubahan jumlah folikel pada setiap kelompok. Hal ini dapat dilihat dari jumlah rata-rata folikel pada masing-masing kelompok. Jumlah rata-rata folikel sekunder dosis 100 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB berbeda dengan jumlah rata-rata kelompok kontrol. Uji One Way ANOVA pertumbuhan folikel sekunder ovarium mencit dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Uji One Way ANOVA Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara Terhadap Pertumbuhan Folikel Sekunder Ovarium Mencit

SK	DB	JK	KT	Fhit	Ftab	Keterangan
					0,05 (F 5%)	
Perlakuan	4	27,76	6,94	2,047198	3,00691728	TN
Blok/Kelompok	4	3,76	0,94	0,277286	3,00691728	TN
Galat/Sisa	16	54,24	3,39			
Total	24	85,76				

Sherwood (2007) menjelaskan bahwa pada tahap awal pertumbuhan folikel pra-antrum dan pematangan oosit tidak memerlukan rangsangan gonadotropik. FSH dibutuhkan pada saat folikel primer

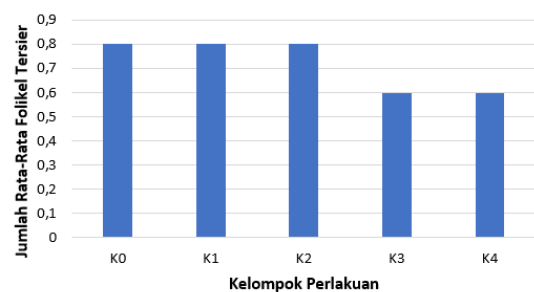
akan berkembang menjadi folikel sekunder. Jumlah rata-rata folikel sekunder pada dosis 50 mg/kgBB sama dengan jumlah rata-rata folikel primer kelompok kontrol, ini membuktikan bahwa afinitas fitoestrogen memang masih rendah. Jumlah rata-rata folikel sekunder pada dosis 100 mg/kgBB menurun, dikaitkan dengan jumlah folikel primer, maka folikel sekunder tidak berkembang. Dosis 150 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB jumlah rata-rata folikel sekunder semakin menurun. Hal ini menunjukkan bahwa folikel primer mengalami kerusakan. Penelitian yang dilakukan oleh Sukarjati dan Nugroho (2021) menyatakan bahwa semakin tinggi dosis fitoestrogen yang diberikan, jumlah folikel primer, sekunder, dan tersier semakin sedikit. Hal ini dikarenakan banyaknya senyawa aktif yang terkandung pada kombinasi ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) dan daun pepaya (*Carica papaya* L) berupa flavonoid, saponin, tannin, dan alkaloid menyebabkan gangguan pelepasan FSH dan LH. Senyawa tersebut juga terdapat dalam ekstrak daun tapak dara.

Junqueira (1999) menjelaskan bahwa gangguan FSH dan LH dapat menyebabkan kegagalan pematangan folikel, sehingga jumlah folikel yang tumbuh lebih sedikit dan banyak folikel yang atresi. Folikel atresi dapat terjadi pada setiap tahapan perkembangan folikel. Folikel yang atresi ditandai dengan terhentinya mitosis pada sel granulosa, terlepasnya sel granulosa dari lamina basal dan oosit yang mati.

Data hasil pengamatan pertumbuhan folikel tersier ovarium mencit dapat dilihat pada tabel 6 dan gambar 4.

Tabel 6. Deskripsi Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Pertumbuhan Folikel Tersier Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Kelompok	Banyak Mencit	Mean	Std Deviasi	Minimal	Maximum
Kelompok Kontrol	5	0,8	0,836	0	2
Dosis 50 mg/kgBB	5	0,8	0,836	0	2
Dosis 100 mg/kgBB	5	0,8	0,836	0	2
Dosis 150 mg/kgBB	5	0,6	0,547	0	1
Dosis 200 mg/kgBB	5	0,6	0,547	0	1



Gambar 4. Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Pertumbuhan Folikel Tersier Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Berdasarkan tabel 4.10 dan gambar 4.3 dapat dilihat bahwa jumlah rata-rata folikel tersier pada kelompok perlakuan 3 dan 4 (150 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 (50 mg/kgBB) dan kelompok perlakuan 2 (100 mg/kgBB).

Uji ANOVA One Way menunjukkan bahwa F hitung (0,817518) < F tabel dengan $\alpha = 0,05$ (3,00691728). Ini menunjukkan bahwa jumlah folikel tersier ovarium tidak berbeda nyata pada setiap perlakuan, meskipun tidak berbeda nyata, hasil ini masih linear dengan keberadaan folikel sebelumnya yaitu folikel primer dan sekunder. Hal ini dapat dilihat dari jumlah rata-rata folikel tersier. Pada dosis tinggi yaitu 150 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB jumlah rata-rata folikel tersier lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pertumbuhan folikel primer hingga folikel tersier dipengaruhi oleh FSH. Apabila sekresi FSH terhambat, pertumbuhan folikel primer hingga folikel tersier juga terhambat. Uji One Way ANOVA pertumbuhan folikel tersier dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Uji One Way ANOVA Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara Terhadap Pertumbuhan Folikel Tersier Ovarium Mencit

SK	DB	JK	KT	Fhit	Ftab	Keterangan
					0,05 (F 5%)	
Perlakuan	4	0,24	0,06	0,11215	3,00691728	TN
Blok/Kelompok	4	2,24	0,56	1,046729	3,00691728	TN
Galat/Sisa	16	8,56	0,535			
Total	24	11,04				

(Sumber: Setiawan, 2019)

Menurut Kumar (2017), kandungan flavonoid dan saponin mengakibatkan kenaikan estrogen dan aktivitas antifertilitas. Udoh (2005) menyatakan bahwa bahan antifertilitas triterpenoid dan saponin bekerja pada aksis hipotalamus, hipofisis, dan gonad sehingga mempengaruhi sekresi hormon gonadotropin. Saponin secara langsung menghambat kerja gen yang berperan dalam steroidogenesis dan menekan perkembangan sel dalam ovarium yang di atur oleh *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) (Francis dkk., 2002).

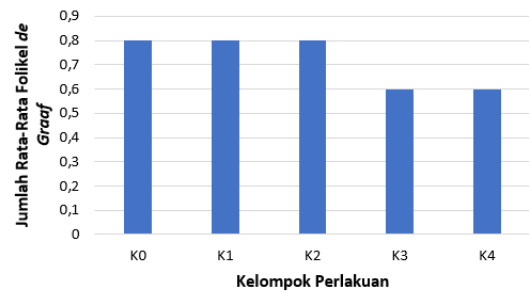
Hasil ini serupa dengan penelitian Ajiningrum dkk. (2020) yang menyatakan bahwa ekstrak rimpang pacing, ekstrak daun srikaya serta kombinasinya berpengaruh terhadap jumlah folikel tersier dan folikel *de Graaf*. Penurunan jumlah folikel tersier disebabkan karena adanya kandungan bahan aktif yang ada di dalam rimpang pacing dan daun srikaya berupa senyawa flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, steroid, dan alkaloid. Senyawa tersebut berfungsi sebagai antifertilitas karena dapat menghambat enzim aromatase yang berfungsi mengkatalis androgen menjadi estrogen, sehingga ketika enzim aromatase dihambat maka jumlah estrogen meningkat dan

menyebabkan umpan balik negatif yang menghambat sekresi FSH yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan folikel.

Data hasil pengamatan pertumbuhan folikel *de Graaf* ovarium mencit dapat dilihat pada tabel 8 dan gambar 5.

Tabel 8. Deskripsi Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Pertumbuhan Folikel *de Graaf* Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Kelompok	Banyak Mencit	Mean	Std Deviasi	Minimal	Maximum
Kelompok Kontrol	5	0,8	0,836	0	2
Dosis 50 mg/kgBB	5	0,8	0,836	0	2
Dosis 100 mg/kgBB	5	0,8	0,836	0	2
Dosis 150 mg/kgBB	5	0,6	0,547	0	1
Dosis 200 mg/kgBB	5	0,6	0,547	0	1



Gambar 5. Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Pertumbuhan Folikel *de Graaf* Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Berdasarkan tabel 8 dan gambar 5 dapat dilihat bahwa jumlah rata-rata folikel *de Graaf* pada kelompok perlakuan 3 dan 4 (150 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 (50 mg/kgBB) dan kelompok perlakuan 2 (100 mg/kgBB).

Uji ANOVA One Way menunjukkan bahwa F hitung (0,1122) < F tabel dengan $\alpha = 0,05$ (3,00691728). Ini menunjukkan bahwa jumlah folikel *de Graaf* ovarium tidak berbeda nyata pada setiap perlakuan, meskipun tidak berbeda nyata, hasil ini masih linear dengan keberadaan folikel sebelumnya, yaitu folikel primer, sekunder, dan tersier. Pemberian dosis tinggi ekstrak daun tapak dara secara oral yaitu 150 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB memiliki jumlah rata-rata folikel *de Graaf* lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Uji One Way ANOVA pertumbuhan folikel *de Graaf* dapat dilihat tabel 9.

Tabel 9. Uji One Way ANOVA Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara Terhadap Pertumbuhan Folikel *de Graaf* Ovarium Mencit

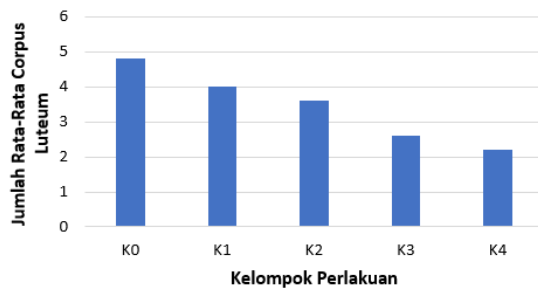
SK	DB	JK	KT	F hitung	F tabel	Keterangan
					0,05 (F 5%)	
Perlakuan	4	0,24	0,06	0,11215	3,00691728	TN
Blok/Kelompok	4	2,24	0,56	1,04673	3,00691728	TN
Galat/Sisa	16	8,56	0,535			
Total	24	11,04				

Wang dan Kurzer (2003) melaporkan bahwa fitoestrogen dapat menghambat sintesis DNA menyebabkan terhambatnya proses proliferasi. Menurunnya jumlah folikel *de Graaf* pada dosis tinggi menunjukkan adanya kematian sel-sel granulosa karena terhambatnya proses proliferasi sel. Folikel tersier berkembang menjadi folikel *de Graaf*, sehingga apabila keberadaan folikel tersier sedikit, maka jumlah folikel *de Graaf* juga sedikit.

Data hasil pengamatan pertumbuhan corpus luteum dapat dilihat pada tabel 10 dan gambar 6.

Tabel 10. Deskripsi Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Pertumbuhan Corpus Luteum Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Kelompok	Banyak Mencit	Mean	Std Deviasi	Minimal	Maximum
Kelompok Kontrol	5	4,8	1,92353841	2	7
Dosis 50 mg/kgBB	5	4	1,22474487	3	6
Dosis 100 mg/kgBB	5	3,6	1,51657509	1	5
Dosis 150 mg/kgBB	5	2,6	1,14017543	1	4
Dosis 200 mg/kgBB	5	2,2	1,4832397	0	4



Gambar 6. Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Pertumbuhan Corpus Luteum Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Berdasarkan tabel 10 dan gambar 6 dapat dilihat bahwa jumlah rata-rata corpus luteum yang paling tinggi terdapat pada kelompok kontrol, sedangkan jumlah rata-rata corpus luteum yang paling rendah terdapat pada kelompok perlakuan 4 (200 mg/kgBB).

Uji ANOVA *One Way* menunjukkan bahwa F hitung (3,094972) > F tabel dengan $\alpha = 0,05$ (3,00691728). Ini menunjukkan bahwa jumlah corpus luteum ovarium mencit berbeda nyata pada setiap kelompok, sehingga ada pengaruh pemberian ekstrak daun tapak dara terhadap jumlah folikel primer ovarium. Uji *One Way ANOVA* pertumbuhan corpus luteum dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Deskripsi Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Terhadap Pertumbuhan Corpus Luteum Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

TABEL ANOVA RAK

SK	DB	JK	KT	F hitung	F tabel	Keterangan
					0,05 (F 5%)	
Perlakuan	4	22,16	5,54	3,094972	3,00691728	*
Blok/Kelompok	4	15,36	3,84	2,145251	3,00691728	TN
Galat/Sisa	16	28,64	1,79			
Total	24	66,16				

Diketahui ada pengaruh ekstrak daun tapak dara terhadap pertumbuhan corpus luteum ovarium mencit, kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui apakah rata-rata dua perlakuan berbeda secara statistik atau tidak. Uji BNT pertumbuhan corpus luteum ovarium mencit dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Uji BNT tentang Pengaruh Ekstrak Daun Tapak Dara Terhadap Pertumbuhan Corpus Luteum Ovarium Mencit

Rumus Uji BNT	sd	T 5%	BNT
$sd = \sqrt{2 * KTGalat} / \text{ulangan}$	0,378	1,746	0,66067

PERLAKUAN	MEAN	MEAN + BNT	NOTASI
K0	2,2	2,869673511	a
K1	2,6	3,260673511	a
K2	3,6	4,260673511	b
K3	4	4,660673511	b
K4	4,8	5,460673511	c

(Sumber: Setiawan, 2019)

Data jumlah corpus luteum ovarium berbeda nyata pada setiap perlakuan. Berdasarkan uji BNT, dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun tapak dara pada kelompok kontrol (NaCl 0,9%) berbeda dengan kelompok perlakuan 1 (50 mg/kgBB), kelompok perlakuan 2 (100 mg/kgBB) dan kelompok perlakuan 3 (150 mg/kgBB) dan kelompok perlakuan 4 (200 mg/kgBB). Data ini menunjukkan bahwa jumlah corpus luteum tertinggi berada pada kelompok kontrol sedangkan yang paling rendah berada pada dosis 200 mg/kgBB. Jumlah corpus luteum mengalami penurunan seiring dengan semakin tingginya dosis ekstrak daun tapak dara. Hal ini berarti semakin tingginya dosis yang diberikan maka peluang terjadinya ovulasi semakin sedikit akibat dari senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun tapak dara yaitu alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, dan isoflavonoid dapat mengganggu sistem hormonal hipotalamus-hipofisis-ovarium dengan menyebabkan umpan balik negatif.

Hasil ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Rejeki dkk. (2017) menjelaskan bahwa pemberian ekstrak daun kenari yang mengandung flavonoid dapat mengganggu mekanisme kerja hormon LH melalui penghambatan ikatan LH dengan reseptornya sehingga efek seluler dari LH tidak terjadi. Tidak adanya efek seluler dari LH menyebabkan tidak terjadinya ovulasi sehingga tidak terbentuk corpus luteum. Selain itu, hal ini juga linear dengan keberadaan folikel *de Graaf* yang dimana apabila folikel *de Graaf* tidak mengalami ovulasi, maka tidak ada corpus luteum yang terbentuk.

Sherwood (2007) menjelaskan bahwa kadar estrogen yang meningkat pada awal fase folikuler dapat menghambat sekresi LH. Pemberian ekstrak daun tapak diberikan pada fase diestrus. Fase diestrus merupakan fase luteal, tepat sebelum fase awal folikular. Pemberian secara oral ekstrak daun tapak dara menyebabkan meningkatnya kadar estrogen sehingga menghambat LH yang menyebabkan terhambatnya ovulasi. Corpus luteum dibentuk oleh sisa-sisa folikel *de Graaf* yang mengalami ovulasi dipengaruhi oleh FSH dan LH dalam proses luteinisasi.

Conclusion

Berdasarkan hasil pengamatan dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun tapak dara berpengaruh secara signifikan terhadap pertumbuhan folikel primer dan corpus luteum, tetapi tidak berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan folikel sekunder, folikel tersier, dan folikel *de Graaf*.

Acknowledgments

Terima kasih kepada kak Nizar dan kak Jagat yang sudah membantu dalam pembuatan preparat histologis ovarium mencit sehingga bisa menambah ilmu dan wawasan saya.

References

- Ajiningrum, P. S., Amilah, S., & Widyaningtyas, P. G. (2020) Efektivitas Ekstrak Rimpang Pacing (*Costus Speciosus*), Daun Srikaya (*Annona Squamosa* L.) dan Ekstrak Kombinasinya terhadap Penurunan Jumlah Folikel Tersier dan Folikel De Graff pada Mencit Betina (*Mus Musculus*). *Journal Pharmasci*, 5(1), 33-37. P-ISSN : 2527-6328, E-ISSN : 2549-3558.
- Benassayag, C., Perrot, A.M., and Ferre, F. (2002). Phytoestrogen as Modulators of Steroid Action in Target Cells J. *Chromatogr. B*. 777.
- Biben. 2012. Fitoestrogen: Khasiat Terhadap Sistem Reproduksi, Non Reproduksi Dan Keamanan Penggunaanya. *Prosiding, Seminar Ilmiah Nasional Bandung Universitas Padjajaran*.
- Cederroth, C.R., Zimmerman, C., dan Nef, S. 2007. Soy, Phytoestrogen and Their Impact on Reproductive Health. *Article. Molecular and Cellular Endocrinology*.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia tahun 2008. hal. 109-114.
- Duursen, Majorie BM Van. 2017. Modulation of Estrogen Synthesis and Metabolism by Phytoestrogen in vitro and the Implications for Women's Health. *PubMed Central*, 06(06). doi: [10.1039/c7tx00184c](https://doi.org/10.1039/c7tx00184c)
- Fernandez, M. A. M., Wiratmini, N. I., & NGAM, E. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Ekor Naga (*Rhaphidophora pinnata* Schott.) Terhadap Perkembangan Uterus Mencit (*Mus Musculus*) Betina yang telah Diovariectomi. *Jurnal Biologi*, 19(2): 74-79.
- Francis, G., dkk. (2002). The biological action of saponins in animal systems: a review, *British Journal of Nutrition*, 88(06), p. 587. DOI: <https://doi.org/10.1079/BJN2002725>
- Gouado, I, Schweigert, FJ, Ejoh, RA, Tchouanguiep, MF, Camp, JV. (2007). Systematic levels of carotenoids from mangoes and papaya consumed in three forms (juice, fresh and dry slice). *Eurp. J. Clin. Nutr.* 61: 1180-1188.
- Irianto, Koes. 2014. *Biologi Reproduksi*. Bandung: Penerbit Alfabeta.
- Junqueira L.C., Carneiro J., and Kelley R.O. 1999. *Histologi Dasa. Edisi ke-8*. Diterjemahkan oleh Dr. Jan Tambayong. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kumar, S., Dagar, S., Kumar, P., Singh, J., Kumar, S., & Kumar, D. (2017). Antifertility effect of hydroalcoholic extract of *Pandanus odoratissimus* L. leaves. *Porto Biomedical Journal*, 2 (5):167-169.
- Mescher, A. L. 1979 (Diterjemahkan Tahun 2009). *Histologi Dasar*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Putri, A. P., & Nasution, M. P. (2022). Skrining Fitokimia Dan Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara (*Catharanthus Roseus* L.) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (Bslt). *Journal of Health and Medical Science*, 01(02): 203-219.
- Primiani, C. N., & Pujiati. 2018. *Fitoestrogen Kacang Gude Kajian Preklinis*. Magetan: CV. AE Media Grafika.
- Rejeki, R. T., Harjana, T., & Sukiya, S. (2017). Pengaruh Ekstrak Daun Kenari (*Canarium indicum*, L.) Terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Tikus Putih Betina (*Rattus norvegicus*, L.). *Kingdom (The Journal of Biological Studies)*, 6(3): 194-203.
- Satyaningtijas, A. S., Maheshwari, H., Achmadi, P., Pribadi, W. A., Hapsari, S., Jondriatno, D., & Kiranadi, B. (2014). Kinerja Reproduksi Tikus Bunting Akibat Pemberian Ekstrak Etanol Purwocen. *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 8(1). <https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v8i1.1253>

- Scudamore, C.L. (2014). *Histology of the Mouse*. England (UK): John Wiley and Son.
- Setiawan, K. 2019. *Buku Ajar Metodologi Penelitian Anova Satu Arah*. Lampung: JURUSAN AGRONOMI DAN HORTIKULTURA FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS LAMPUNG
- Setyowati, W. A. E., Ariani, S. R. D., Ashadi, Mulyani, B., & Hidayat, A. (2015). Aktivitas Antifertilitas Kontrasepsi dari Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr) Varietas Petruk. *Prog Studi Pendidikan Kimia Jurusan FMIPA Fkip UNS, Surakarta*, 57-126.
- Setyowati, W. A. E., Ariani, S. R. D., Ashadi, Mulyani, B., & Hidayat, A. (2015). Aktivitas Antifertilitas Kontrasepsi dari Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr) Varietas Petruk. *Prog Studi Pendidikan Kimia Jurusan FMIPA Fkip UNS, Surakarta*, 57-126.
- Sherwood, L. 2007. *Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem, Edisi 6*. (Terjemahan oleh Brahm U. Pendi). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Sukarjati, S., & Nugroho, G. A. (2021). Potensi Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*), Daun Pepaya (*Carica papaya* L) Serta Kombinasi Kedua Ekstrak Terhadap Jumlah Folikel Primer, Sekunder dan Tersier Pada Mencit (*Mus musculus*). *Wahana: Tridarma Perguruan Tinggi*, 73(2): 39-57.
- Snyder, C. R., J.J. Kirkland., J.L. Glajach. 1997. *Practical HPLC Method Development. Second Edition*. New York: John Wiley dan Sons.
- Udoh, P., Essien, I. & Udoh., F. (2005). Effects of *Carica papaya* (Paw Paw) Seeds Extract on The Morphology of Pituitary-Gonadal Axis Pf Male Wistar Rats. *Phytotherapy Research*, 19 (12): 1065-1068.
- Wang, C. and M.S. Kurzer. 2003. Phytoestrogen Concentration Determines Effects on DNA Synthesis in Human Breast Cancer Cells. *Nutrition and Cancer*, 28(3): 236-247.
- Whitten, P.L. dan H.B. Pattisaul, (2001). Cross-species dan interassay Comparison of Phytoestrogen Action. *Environmental Health Perspectives Supplements*. Volume 109. *Departemen Anthropology and Center for Behavioural Neuroscience Emory University. Atlanta. Georgia USA*. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109s15>