



LAPORAN PENELITIAN
DIPA UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2008

**PERANAN EKSTRAK ETANOL DAUN WUNGU
{*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.}
UNTUK MENGHAMBAT ATROFI KELENJAR MAMMAE
MENCIT BETINA OVARIIEKTOMI**

Peneliti :
Drs. I.B. Rai Pidada, M.Si.
Dra. Listijani Suhargo, M.Si.

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA
Dibiayai oleh Dana DIPA Universitas Airlangga
SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 4318/J03/PG/2008
Tanggal 19 Mei 2008

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
Desember 2008

- ACANITHACEAE
- MAMMARY GLANDS

IR-Perpustakaan Universitas Ailangga

double No.



LAPORAN PENELITIAN
DIPA UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2008

KKC
KK
LP 22/09
Pid
P

**PERANAN EKSTRAK ETANOL DAUN WUNGU
{*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.}
UNTUK MENGHAMBAT ATROFI KELENJAR MAMMAE
MENCIT BETINA OVARIEKTOMI**



Peneliti :
Drs. I.B. Rai Pidada, M.Si.
Dra. Listijani Suhargo, M.Si.

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA
Dibiayai oleh Dana DIPA Universitas Airlangga
SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 4318/J03/PG/2008
Tanggal 19 Mei 2008

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
Desember 2008

**HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN**

Judul :
Peranan Ekstrak Etanol Daun Wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.}
Untuk Menghambat Atrofi Kelenjar Mammae Mencit Betina Ovariektomi

Ketua Pelaksana

a. Nama : Drs. I.B. Rai Pidada, M.Si.
b. Jenis kelamin : Laki-laki
c. Pangkat/gol./NIP : Pmbina Tk I/ gol. IV/b/ 130 531 824
d. Jabatan sekarang : Staf Pengajar
e. Fakultas : Sains dan Teknologi
f. Jurusan : Biologi
g. Alamat Kantor : Departemen Biologi F. Sains dan Teknologi,
Jl. Mulyorejo (Kampus C Unair)
h. Telp/Fax/Email : 031-5936501

Jumlah Tim Peneliti : 2 orang
Jangka Waktu Kegiatan : 6 bulan
Lokasi Kegiatan : Departemen Biologi FST UNAIR Surabaya
Biaya yang diperlukan : Rp. 10.000.000,-

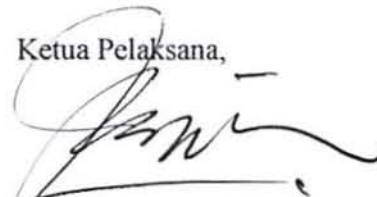
Surabaya, 28 Nopember 2008

Mengetahui,
Dekan FST Universitas Airlangga




Drs. Salamun, M.Kes.
NIP. 131696506

Ketua Pelaksana,



Drs. I.B. Rai Pidada, M.Si.
NIP. 130 531 824

Mengetahui,
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat



Prof. Dr. Bambang Sektiari L., DEA., drh.
NIP. 131837004

RINGKASAN PENELITIAN

| | |
|------------------|--|
| Judul | : Peranan Ekstrak Etanol Daun Wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff.) Untuk Menghambat Atrofi Kelenjar Mammae Mencit Betina Ovariectomi |
| Petua Peneliti | : I.B. Rai Pidada |
| Anggota Peneliti | : Listijani Suhargo |
| Sumber Biaya | : Dana DIPA Universitas Airlangga Nomor SK Rektor 4318/J03/PG/2008 |

Penelitian mengenai obat tradisional perlu dikembangkan untuk mendapatkan ragam obat-obatan yang bermanfaat bagi kesehatan. Sebagian besar obat tradisional berasal dari tumbuhan. Salah satu tumbuhan obat yaitu daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) yang banyak digunakan untuk pengobatan ambeien. Daun wungu diketahui mengandung delapan macam senyawa steroid (Hakim dan Soedigdo, 1983) dan juga mengandung flavonoid (Isnawati, 2003). Ekstrak daun wungu juga diketahui dapat berpengaruh meningkatkan pertumbuhan sel epitel endometrium dan proliferasi sel epitel vagina pada mencit betina terovariectomi (Suhargo, 2003). Hal ini disebabkan karena senyawa-senyawa tersebut dapat terikat dengan reseptor estrogen dari sel target dan selanjutnya meningkatkan proliferasi sel. Selain uterus dan vagina, sel target dari bahan estrogenik adalah kelenjar mammae. Mencit yang terovariectomi merupakan model untuk kondisi menopause. Mencit yang terovariectomi (dibuang ovariumnya) mengalami penurunan kadar estrogen, akibatnya terjadi atrofi (penurunan pertumbuhan) kelenjar mammae. Daun wungu sebagai bahan estrogenik diharapkan dapat memulihkan kondisi kelenjar mammae seperti kondisi normal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan ekstrak etanol daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) untuk menghambat atrofi kelenjar mammae mencit betina ovariectomi.

Untuk mencapai tujuan tersebut maka dilakukan penelitian secara eksperimental, dengan rancangan acak lengkap di laboratorium Biologi Reproduksi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga dengan metode penelitian sebagai berikut : 30 ekor mencit ovariectomi dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu 6 ekor mencit diberi 0,1 ml minyak kelapa, 6 ekor mencit diberi larutan lynoral (ethynilestradiol) 0,06 µg dalam 0,1 ml minyak kelapa dan masing-masing 6 ekor mencit diberi ekstrak daun wungu (0,5 mg, 0,75 mg dan 1 mg) dalam 0,1 ml minyak kelapa. Perlakuan diberikan melalui per oral dengan sonde selama 30 hari. Pada akhir penelitian, semua hewan dikorbankan dan diambil kelenjar mammae pada daerah inguinal sebelah kanan, kemudian difiksasi dengan larutan Bouin. Irisan kelenjar mammae dibuat preparat histologi dengan pewarnaan Hematoxylin dan Eosin. Dari preparat kelenjar mammae dilakukan pengamatan pada tiga lapangan pandang mengenai diameter puting, diameter saluran susu, tebal lapisan epitel pada ujung saluran susu dan tebal lapisan epitel saluran susu.

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk data diameter puting dan diameter saluran susu, sedangkan untuk data tebal lapisan epitel pada ujung saluran susu dan tebal lapisan epitel saluran susu yang bersifat tidak homogen, dianalisis dengan uji Kruskal -Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

Hasil analisis data menunjukkan bahwa ekstrak daun wungu (*Graptophyllum* *actum* (L.) Griff.) dengan konsentrasi 0,5 mg, 0,75 mg dan 1 mg dalam 1 ml minyak kelapa dapat memperbesar diameter puting kelenjar mammae, diameter saluran susu, tebal lapisan epitel ujung saluran susu dan tebal lapisan epitel saluran susu. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun wungu dapat menghambat atrofi kelenjar mammae mencit betina ovariektomi dan tidak ditemukan konsentrasi optimal yang paling berpengaruh terhadap penelitian ini, ketiga konsentrasi yang dipergunakan memberikan efek yang sama.

SUMMARY

: The Role of Daun Wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.}
Ethanol Extract For Mammary Gland Atrophy Inhibition in
Ovariectomized Mice

of researcher : IB Rai Pidada

er of researcher: Listijani Suhargo

e of grand : Dana DIPA Universitas Airlangga

Nomor SK Rektor 4318/J03/PG/2008

Daun wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.} contains eight steroid compounds (Hakim and Soedigdo, 1983) and flavonoid (Isnawati, 2003). Daun wungu ethanol extracts can increased epithelial cell proliferation of endometrium and vagina in ovariectomized mice (Suhargo, 2003). These compounds can bind to estrogen receptor target cells. The other target cells of this estrogenic compounds is mammary gland. Ovariectomized mouse is a model for menopausal condition. Estrogen level decrease in mouse. Daun wungu as estrogenic substances will repair the atrophy of mammary gland (a condition that the mammary gland stop to grow) to become normal condition.

The research is aimed at the role of daun wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.} ethanol extracts to inhibit the mammary gland atrophy in ovariectomized mice. The experimental research is done, with complete random design in the laboratory of animal reproduction, FST, Airlangga University. In this research, thirty mice is used they are divided in five groups, in the first group, six mice are given 0,1 ml coconut oil in the second group, six mice are given 0,06 µg ethynil estradiol in 0,1 ml coconut oil and the others three groups with six mice in each group are given with daun wungu extract in 0,5 mg, 0,75 mg and 1 mg in 0,1 ml coconut oil. All of the treatment is done twice a day for thirty days.

At the end of this research, all animals are sacrificed and the mammary gland in right inguinal are taken and are fixed in Bouin Solution. Then the section of mammary gland are made in Hematoxyline and Eosin staining for histology examination. The measurement with micrometer is done for diameter of the nipple, diameter of mammary duct, the thickness of epithelial linings of the end of mammary duct and the thickness of epithelial linings of mammary duct. The first of two data were analyzed with ANOVA and then with LSD test. And the other two data were analyzed with Kruskal-Wallis test and then with Mann Whitney test, because they aren't normal. The result showed that daun wungu extract in the concentration of 0,5 mg, 0,75 mg and 1 mg could increased diameter of the nipple, diameter of mammary duct, thickness of epithelial linings of the end of mammary duct and the thickness of epithelial linings of mammary duct. These conclusion of this research says that daun wungu extract could inhibit the atrophy of mammary gland. And there aren't optimal concentration of daun wungu extract, because the all concentrations give the same effect on mammary gland.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur ke hadapan Tuhan Yang Maha Esa atas segala luhmat dan karunia-Nya, yang telah memberikan ketabahan dan kekuatan kepada tim peneliti sehingga penelitian dan penyusunan laporan ini dapat diselesaikan.

Pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Universitas Airlangga yang telah memberikan biaya untuk penelitian ini. Demikian pula terima kasih kami kepada semua pihak yang membantu pelaksanaan penelitian ini.

Memang, seperti pepatah mengatakan bahwa tiada gading yang tak retak. Demikian pulalah keadaan laporan penelitian yang sederhana ini, yang oleh karena keterbatasan kemampuan, pengetahuan dan pengalaman dari penyusunnya, pastilah di sana-sini masih banyak kekurangannya. Demi untuk kesempurnaannya, segala kritik dan saran yang bersifat membangun sangat kami harapkan.

Harapan kami, semoga laporan penelitian yang sederhana ini dapat menunjang perkembangan ilmu pengetahuan di masa yang akan datang.

Surabaya, Desember 2008.

Tim Peneliti.

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| AMAN PENGESAHAN..... | ii |
| REVISI DAN PERUBAHAN PENELITIAN..... | iii |
| PERSEMBAHAN..... | v |
| DAFTAR PENGANTAR..... | vi |
| DAFTAR GAMBAR..... | viii |
| I. PENDAHULUAN..... | 1 |
| 1.1. Latar Belakang Permasalahan..... | 2 |
| 1.2. Rumusan Masalah..... | 2 |
| 1.3. Hipotesis Penelitian..... | 2 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA..... | 4 |
| 2.1. Tinjauan Tentang Daun wungu { <i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff.}..... | 3 |
| 2.2. Sifat Estrogenik Flavonoid dan Fitosterol..... | 4 |
| 2.3. Kelenjar Mammae Pada Wanita Postmenopause..... | 6 |
| 2.4. Struktur Kelenjar Mammae Mencit..... | 6 |
| 2.5. Peranan Estrogen Pada Kelenjar Mammae Mencit Posovarietomi..... | 8 |
| III. TUJUAN DAN MANFAAT..... | 10 |
| 3.1. Tujuan Penelitian..... | 10 |
| 3.2. Manfaat Penelitian..... | 10 |
| IV. METODE PENELITIAN..... | 11 |
| 4.1. Lokasi dan Waktu Penelitian..... | 11 |
| 4.2. Materi Penelitian..... | 11 |
| 4.3. Peralatan Penelitian..... | 12 |
| 4.3. Persiapan Penelitian..... | 12 |
| 4.4. Prosedur Penelitian..... | 13 |
| 4.5. Analisis Data..... | 13 |
| V. HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 14 |
| 5.1. Hasil Penelitian..... | 14 |
| 5.2. Pembahasan..... | 19 |
| VI. KESIMPULAN DAN SARAN..... | 21 |
| 6.1. Kesimpulan..... | 21 |
| 6.2. Saran..... | 21 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 22 |
| LAMPIRAN..... | 24 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|---|----------------|
| 2.1.1. Tanaman daun wungu (<i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff)..... | 5 |
| 2.2.1. Kerangka struktur flavonoid | 5 |
| 2.4.1. Lokasi kelenjar mammae menciit | 7 |
| 2.5.1. Fotomikrograf whole mount dari kelenjar mammae..... | 8 |
| 2.5.2. Gambaran histologi saluran air susu dengan perlakuan estradiol (a) dan dengan larutan NaCl 0,85% (b)..... | 9 |
| 5.1.1. Diagram batang dari diameter puting (A), diameter saluran susu (B), tebal lapisan epitel ujung saluran susu (C) dan tebal lapisan epitel saluran susu pada kelenjar antar kelompok perlakuan (K1, K2, P1, P2 dan P3)..... | 15 |
| 5.1.2. Gambaran kelenjar mammae secara whole mount..... | 17 |
| 5.1.3. Irisan melintang kelenjar mammae..... | 18 |

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang Permasalahan

Sebagai negara yang memiliki kekayaan flora nomor dua di dunia, Indonesia ini memiliki berbagai macam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat termasuk obat untuk pencegahan dan pengobatan tumor dan kanker. Akan tetapi dalam kenyataannya perkembangan pemakaian tumbuhan untuk pengobatan tidak seperti yang diperkirakan, bahkan bila dibandingkan dengan beberapa negara Asia, Indonesia tergolong rendah, terutama pemakaian tumbuhan obat yang diintegrasikan dalam pelayanan kesehatan.

Keberhasilan masuknya obat tradisional ke dalam sistem pelayanan kesehatan formal hanya dapat dicapai apabila terdapat kemauan yang besar dari para klinisi untuk menerima dan menggunakan obat tradisional, sebaliknya dari para apoteker untuk bekerja lebih keras guna menghasilkan obat tradisional yang terstandarisasi, disertai data ilmiah yang akurat, termasuk di dalamnya data tentang hasil uji klinik yang perlu disajikan kepada para klinisi.

Penelitian mengenai obat tradisional perlu dikembangkan untuk mendapatkan ragam obat-obatan yang bermanfaat untuk kesehatan. Sebagian besar obat tradisional berasal dari tumbuh-tumbuhan, yaitu berupa akar, kulit batang, kayu, daun, bunga atau biji. Agar pengobatan secara tradisional dapat dipertanggung jawabkan, maka diperlukan penelitian di bidang farmakologi, toksikologi, identifikasi dan isolasi bahan aktifnya. Satu tanaman obat perlu diteliti manfaatnya adalah daun wungu. Daun wungu biasanya digunakan dalam pengobatan diuretik (batang atau daunnya), melancarkan haid (bunganya), dan daunnya digunakan untuk pengobatan anti inflamasi, melembutkan kulit, sembelit, ambeien, reumatik, bisul dan pencahar ringan.). Daun wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.} diketahui mengandung flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, steroid. (Arifatin, 1999). Senyawa-senyawa yang termasuk dalam satu kelompok mempunyai kesamaan struktur, tetapi fungsinya dapat berbeda (Burow, *et al.*, 2001). Adanya kandungan flavonoid dan steroid dalam daun wungu perlu diteliti aktivitas estrogeniknya. Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa daun wungu mempunyai aktivitas estrogenik yaitu dapat meningkatkan



proliferasi sel pada endometrium dan vagina pada mencit betina ovariektomi. (Suhargo, 2003).

Pada penelitian ini diteliti aktivitas estrogenik daun wungu pada kelenjar mammae. Pada wanita paska menopause, kelenjar mammae mengalami atrofi akibat menurunnya kadar estrogen, dan pada kelenjar mammae terjadi pelebaran saluran air susu dan peningkatan jaringan ikat. Saluran air susu yang melebar berisi cairan, dan dapat terjadi peradangan. Keadaan ini menimbulkan rasa sakit pada kelenjar mammae (Baziad, 2003).

Untuk mengatasi keluhan tersebut dilakukan terapi telah dilakukan adalah dengan pemberian estrogen sintetik secara oral atau injeksi (Baziad, 2003). Estrogen sintetik mempunyai efek estrogenik yang sangat tinggi, sehingga disamping dapat mengatasi berbagai keluhan, estrogen sintetik dapat memacu proliferasi sel kelenjar mammae. Peningkatan proliferasi sel (hiperplasia) dapat mengarah pada terjadinya kanker kelenjar mammae (DeGroot, 1995).

Penelitian daun wungu sebagai bahan estrogenik diharapkan dapat merupakan bahan alami yang juga dapat digunakan untuk mengatasi keluhan wanita menopause antara lain akibat atrofi kelenjar mammae. Dalam penelitian ini diamati efek daun wungu pada kelenjar mammae mencit ovariektomi yang merupakan model dari wanita menopause (Papadaki, *et al.*, 1976).

1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) dapat menghambat atrofi kelenjar mammae mencit betina ovariektomi?
2. Berapa konsentrasi ekstrak etanol daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) yang paling optimal peranannya untuk menghambat atrofi kelenjar mammae mencit betina ovariektomi?

1.3. Hipotesis Penelitian

Jika aksi steroid dan flavonoid pada ekstrak daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) dapat memacu proliferasi dan pertumbuhan sel epitel pada kelenjar mammae, maka pemberian ekstrak daun wungu pada mencit yang ovariektomi akan menghambat proses atrofi pada kelenjar mammaenya.

- 0 : Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) terhadap penghambatan atrofi kelenjar mammae
- IA : Ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) terhadap penghambatan atrofi kelenjar mammae

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1. Tinjauan Tentang Daun Wungu

Menurut Setiyono dan Wahyudi (1983) klasifikasi tanaman daun wungu sebagai berikut :

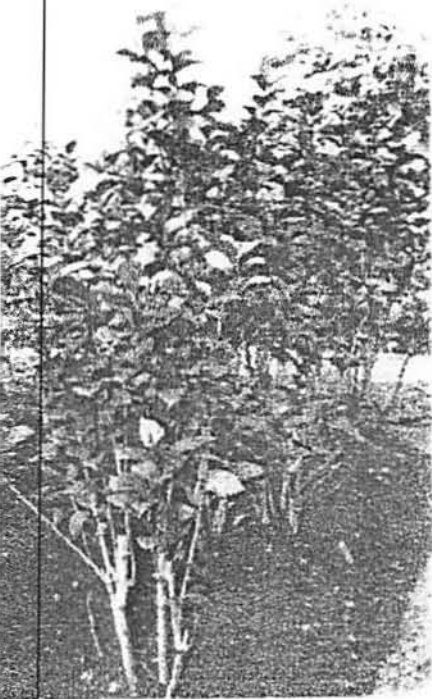
| | |
|-----------|---|
| Divisi | : Embryophyta |
| Subdivisi | : Angiospermae |
| Kelas | : Dicotyledoneae |
| Ordo | : Tubiflorae |
| Subordo | : Acanthineae |
| Familia | : Acanthaceae |
| Genus | : <i>Graptophyllum</i> |
| Spesies | : <i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff. |

Daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) adalah tumbuhan perdu yang memiliki batang tegak, ukurannya kecil, dan tingginya hanya dapat mencapai 3 meter (Thomas, 1992). Kulit dan daun berlendir. Cabang bersudut tumpul berbentuk galah dan beruas rapat. Daunnya merupakan daun tunggal dengan tangkai pendek yang bersilang berhadapan. Helaian daunnya berbentuk bulat telur sampai lanset, ujung dan pangkalnya runcing dengan tepi bergelombang, panjangnya antara 8 cm sampai 20 cm. Lebar daunnya berukuran 3 cm sampai 13 cm, tulang daunnya menyirip serta permukaan atasnya mengkilap berwarna ungu. Bunga tanaman ini termasuk bunga majemuk yang keluar dari ujung percabangan, tersusun dalam rangkaian berupa tandan yang panjangnya 3 cm sampai 12 cm, bunganya berwarna merah tua. Buah dari tanaman ini merupakan buah kotak dan berwarna ungu kecoklatan. Sedangkan bijinya berjumlah dua dan berwarna putih. Cara memperbanyak tanaman dapat dilakukan stek batang. Struktur daun wungu dapat dilihat pada gambar 2.1. (Wijayakusuma, *et al.*, 1993).

Kandungan kimia daun wungu adalah alkaloid non toksik, glikosida, steroid, saponin dan tannin (Wijayakusuma, *et al.*, 1993). Menurut hasil penelitian Hakim dan Soedigdo (1983) diketahui bahwa daun tanaman ini mengandung sedikitnya delapan senyawa steroid. Salah satu kelompok steroid yang terdapat pada daun ini adalah fitosterol yang merupakan komponen penyusun steroid terbanyak. Dari

wa steroid. Salah satu kelompok steroid yang terdapat pada daun ini adalah erol yang merupakan komponen penyusun steroid terbanyak. Dari penelitian yang lukan Isnawati (2003) diketahui kandungan kimia yang lain dari daun wungu yaitu noid, antosianin dan leukoantosianin.

Adanya berbagai senyawa kimia yang terkandung dalam daun wungu ungtindakan untuk dapat dimanfaatkan sebagai obat. Pemanfaatannya selama ini k menyembuhkan wasir, bisul, borok, bengkak, memar karena terpukul, sembelit, telinga dan untuk melancarkan haid (Wijayakusuma, *et al.*, 1993).



bar 2.1.1. Tanaman daun wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff. }

Sifat Estrogenik Flavonoid dan Fitosterol

Flavonoid mencakup flavon, isoflavon, flavanon dan flavonol (Brueggemeier, *et* 2000). Struktur dasarnya terdiri dari dua cincin benzen berantai (cincin A dan B) ulu phenol heterosiklik (cincin C) dapat dilihat pada gambar 2.2. (Meddleton, *et al.*, 0)).

Flavonoid mempunyai beberapa peranan antara lain sebagai antioksidan, inhibitor enzim aromatase, prekursor substansi racun dan pigmen, dan efek antiproliferatif. Flavonoid dapat berikatan secara langsung dengan reseptor estrogen dan berpengaruh pada organ-organ reproduksi wanita yaitu menyebabkan proliferasi sel. (Middleton, *et al.*, 2000).

Fitosterol merupakan steroid alkohol (sterol) yang terdapat di dalam tanaman. Pada tanaman terdapat lebih dari 40 senyawa sterol yang didominasi beberapa senyawa kelompok fitosterol utama yaitu β -sitosterol, stigmasterol, dan campesterol. (Silalahi, 2002). Phytosterol diketahui berpengaruh pada sistem reproduksi hewan dan phytosterol mempunyai efek estrogenik karena ikatannya dengan reseptor estrogen terutama reseptor estrogen β . Beta-sitosterol pada konsentrasi lebih atau sama dengan 1 $\mu\text{mol/L}$ diketahui dapat meningkatkan proliferasi sel MCF-7 in vitro. Sel MCF-7 adalah sel karsinoma kelenjar mammae manusia, yang banyak digunakan untuk uji estrogenik suatu bahan secara in vitro (Ju, *et al.*, 2008).

2.3. Kelenjar Mammae Pada Wanita Postmenopause

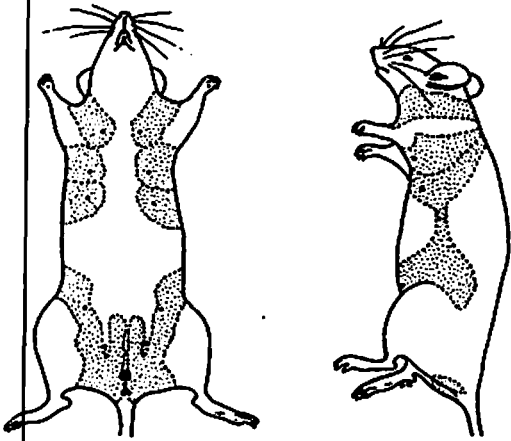
Kelenjar mammae merupakan organ sasaran utama bagi pengaruh estrogen dan progesteron. Kekurangan estrogen mengakibatkan involusi kelenjar mammae. Pada postmenopause, kelenjar mammae mengalami atrofi, terjadi pelebaran saluran air susu. Saluran air susu yang melebar itu berisi cairan, dan salurannya makin melebar, timbul laserasi dan akibatnya kelenjar mammae terasa sakit (Baziad, 2003).

Pada wanita post menopause, produksi estrogen tetap berlangsung pada jaringan perifer (lemak dan kulit). Estrogen ini tidak mengalami siklus seperti pada masa reproduksi. Estrogen menyebabkan proliferasi sel-sel kelenjar mammae. Akibatnya pada 40% wanita postmenopause dapat terjadi proliferasi epitel pada saluran air susu. Dan bahkan pada wanita usia 70 tahun dapat terjadi hiperplasia epitel (Baziad, 2003).

2.4. Struktur Kelenjar Mammae Mencit

Mencit mempunyai 5 pasang kelenjar mammae, tiga pasang di bagian thorax (dada) dan 2 pasang di bagian inguinal, seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.3. Pada hewan betina, kelenjar mammae mengalami perubahan sesuai dengan fase

reproduksinya yaitu fase estrus, kehamilan dan laktasi. Kelenjar mammae mengalami atresia pada hewan jantan.



Gambar 2.4.1. Lokasi kelenjar mammae mencit, Tiga pasang di daerah thorax dan dua pasang di daerah inguinal (Covelli, 2008)

Puting dari masing-masing kelenjar mammae terdiri dari tiga lapisan epidermal, stratum germinativum, stratum granulosum dan stratum corneum yang tertutup oleh kulit elastis. Satu saluran tunggal pada stratum germinativum menuju ke lapisan lemak yang terletak di subkutan, yang selanjutnya membentuk jaringan saluran dan tidak berhubungan dengan kelenjar mammae yang lain. Masing-masing saluran dilapisi oleh epitelium berbentuk kubus dan dikelilingi oleh jaringan ikat sirkular. Saluran di subkutan meluas dan melebar dan lapisan epiteliumnya mengalami mitosis aktif pada saat sebelum pubertas dan sebelum estrus (Rugh, 1968).

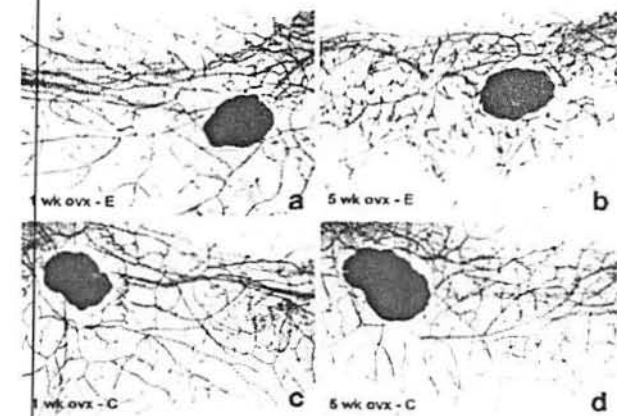
Untuk pertumbuhan saluran pada kelenjar mammae diperlukan bahan untuk merusak komponen dari jaringan ikat di sekeliling, bahan tersebut adalah „*spreading factor*“ yang dihasilkan pada ujung saluran yang menggelembung (dinamakan alveolus). Jumlah „*spreading factor*“ dalam kelenjar mammae selama kebuntingan berhubungan dengan pertumbuhan kelenjar, dan mencapai maksimum pada dua pertiga dari periode kehamilan, dan menurun selama sepertiga akhir dari periode kebuntingan, ketika sel-sel dari kelenjar mammae mulai mensekresi air susu (Rugh, 1968).

Pada mencit dengan umur kebuntingan 11 hari, lapisan epitel dari kelenjar mammae mulai meningkat dan selanjutnya membentuk alveoli, dan pada

kebuntingan 14 hari sistem alveolus berkembang pesat, untuk persiapan laktasi. Aktivitas sekretori mulai dalam alveolus yang terdapat di dekat puting dan meluas ke tepi puting. Pada kebuntingan 17 hari kelenjar berkembang maksimal (Rugh, 1968).

5. Peranan Estrogen Pada Kelenjar Mammae Mencit Postovariektomi

Kelenjar mammae mengalami regresi setelah ovariektomi. Hal ini ditunjukkan dengan adanya saluran yang sederhana dengan satu lapisan sel epitel, dengan terangnya percabangan ke samping dan alveolus. Perlakuan dengan 17β -Estradiol dengan dosis $1\mu\text{g}$ (melalui injeksi subkutan atau intraperitoneal) menyebabkan pembesaran ujung saluran air susu dengan beberapa lapisan sel epitel. Ujung saluran adalah struktur epitel yang aktivitas proliferasinya tinggi. Ujung saluran air susu itu merupakan titik pertumbuhan utama yang mengarah pada pemanjangan saluran. Pengaruh estradiol lebih nyata menunjukkan lebih banyak percabangan saluran pada mencit yang postovariektominya lebih lama yaitu 5 minggu (pada gambar 2.4., a) dibandingkan yang postovariektominya 1 minggu (pada gambar 2.4.,b). Pada perlakuan control diberikan larutan NaCl 0,85%. Pada gambar 2.5. ditunjukkan pengaruh estradiol terhadap peningkatan pertumbuhan ujung saluran air susu (Raafat, *et al.*, 1999).



Gambar 2.5.1. Fotomikrograf whole mount dari kelenjar mammae, 1 dan 5 minggu setelah ovariektomi. Gambar a dan b adalah gambaran kelenjar mammae setelah perlakuan dengan estradiol, yang menunjukkan lebih banyak percabangan dan ujung saluran yang melebar (Raafat, *et al.*, 1999)



Gambar 2.5.2. Gambaran histologi saluran air susu dengan perlakuan estradiol (a) dan dengan larutan NaCl 0,85% (b). Pada gambar a, ujung saluran terdiri dari 3 lapisan sel epitel, pada gambar b, ujung saluran terdiri dari satu lapisan sel epitel (Raafat, *et al.*, 1999).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

1. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan ekstrak etanol daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) untuk menghambat atrofi epitel kelenjar mammae mencit betina postovariektomi.

2. Manfaat Penelitian

Dengan penambahan ekstrak etanol daun wungu yang diketahui dapat mencegah peradangan dan diteliti sifat estrogeniknya untuk menghambat atrofi sel epitel saluran, maka diharapkan wanita menopause terhindar dari rasa sakit pada kelenjar mammae.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biologi Reproduksi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Kampus C, Jl. Mulyorejo, Surabaya. Penelitian dilakukan selama 5 bulan, mulai bulan Agustus hingga bulan Desember 2008.

4.2. Materi Penelitian

4.2.1. Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencit yang diovariectomi, jenis *Mus musculus* dari strain BALB/C, berumur 2-3 bulan dengan berat badan sekitar 30 g, sebanyak 30 ekor.

4.2.2. Ekstrak Daun Wungu

Daun wungu yang diperoleh dari kebun Fakultas Sains dan Teknologi di Surabaya. Proses pembuatan ekstrak daun wungu dilakukan di laboratorium Kimia Organik, FST, UNAIR.

4.2.3. Lynoral

Lynoral adalah tablet yang mengandung ethynil estradiol, 1 tablet lynoral mengandung 50 µg ethynil estradiol.

3. Peralatan Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian ini meliputi peralatan untuk pemeliharaan hewan coba, *disposable syringe* 5 ml dengan ujung jarum diberi logam, peralatan untuk ovariektomi, peralatan untuk ekstraksi daun wungu, peralatan untuk pembuatan preparat histologi kelenjar mammae (dengan pewarnaan Hematoxylin & eosin), timbangan, counter dan mikroskop cahaya.

4. Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian meliputi pembuatan ekstrak daun wungu, ovariektomi hewan coba dan pemeliharaan hewan coba paska ovariektomi selama 2 minggu.

4.1. Pembuatan ekstrak daun wungu

Daun wungu dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C kemudian dihaluskan dengan blender sampai membentuk serbuk. Selanjutnya serbuk daun wungu dimaserasi dengan Etanol 90% 1 hari semalam dan diulang sebanyak 3 kali (1kg serbuk kering membutuhkan 1 liter Etanol). Selanjutnya dilakukan penyaringan dan cairan hasil rendaman diuapkan dengan *rotary evaporator* selama 2 hari. Hasil yang diperoleh adalah ekstrak Etanol yang mengandung senyawa-senyawa non polar dan polar dari daun wungu (Arifatin, 1999).

4.2. Ovariektomi hewan coba

Hewan dibius dengan ketalar sebanyak 0,5 cc dengan dosis 1 ml/ 5 kg berat badan, ditelentangkan di bak, dilakukan pemotongan rambut di sekitar garis tengah perut bawah, diolesi dengan betadine pada garis tengah itu, dan dibuat irisan, isi perut dikeluarkan dan ditetesi larutan garam fisiologis, ditentukan adanya ovarium, dilakukan pengikatan pada tuba falopii dan selanjutnya pemotongan ovarium, semua isi perut dikembalikan dan selanjutnya irisan ditutup dengan dijahit, pada akhir operasi, kemudian tempat jahitan diberi betadine dan serbuk antibiotika (Knecht, 1987).



5. Prosedur Penelitian

Pada penelitian ini digunakan hewan coba sebanyak 30 ekor, yang dibagi menjadi 5 kelompok, yang meliputi:

kelompok 1 : diberi 1ml minyak kelapa,

kelompok 2 : diberi ethynil estradiol 0,06 ug / 1 ml minyak kelapa

kelompok 3 : diberi ekstrak daun wungu 0,50 mg / 1ml minyak kelapa

kelompok 4 : diberi ekstrak daun wungu 0,75 mg / 1 ml minyak kelapa

kelompok 5 : diberi ekstrak daun wungu 1,00 mg / 1 ml minyak kelapa

Perlakuan dimulai 3 minggu setelah ovariektomi, selama 30 hari. Sebelum perlakuan dimulai dilakukan pemeriksaan hapusan vagina selama 4 hari untuk memastikan bahwa semua hewan sudah dalam kondisi hipoestrogen (dengan melihat gambaran sel yang tidak menunjukkan adanya kornifikasi). Pada akhir penelitian, semua hewan dikorbankan dan diambil kelenjar mammae (sebelah kanan daerah inguinal) serta difiksasi dengan larutan Bouin. Irisan kelenjar mammae dibuat preparat histologi dengan pewarnaan Hematoxylin dan Eosin.. Dari preparat kelenjar mammae dilakukan pengamatan mengenai diameter puting, diameter saluran susu, tebal lapisan pada ujung saluran air susu dan tebal lapisan epitel saluran susu pada lapangan pandang.

5. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa nilai rata-rata diameter puting, diameter saluran susu, tebal lapisan sel pada ujung saluran air susu dan tebal lapisan sel epitel sepanjang saluran susu untuk setiap kelompok, yang dianalisis dengan menggunakan Analisis Variansi (ANOVA) dengan taraf signifikansi 0,05 dan bila terdapat perbedaan signifikan, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (untuk data yang sifatnya homogen). Dan untuk data yang sifatnya tidak homogen dianalisis dengan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Penelitian

Hasil Penelitian tentang perbandingan pengaruh pemberian ekstrak daun wungu (*Graptophyllum pictum (L.) Griff.*) terhadap diameter puting, diameter saluran air susu, tebal lapisan epitel pada ujung saluran air susu, dan tebal lapisan epitel pada saluran air susu ditunjukkan pada tabel berikut ini.

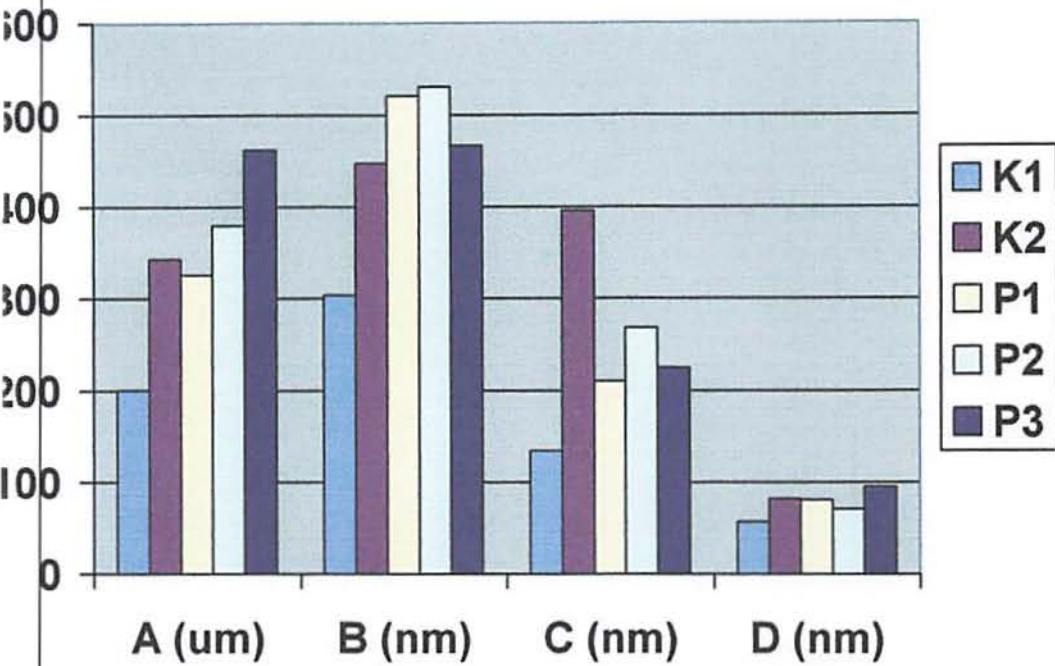
Tabel 5.1. Diameter puting (μm) kelenjar mammae antara kelompok perlakuan

| Perlakuan | Diameter puting (μm) | Diameter saluran susu (μm) | Tebal lapisan epitel ujung sal. susu (μm) | Tebal lapisan epitel saluran susu (μm) |
|-----------|-----------------------------------|---|--|---|
| 1 | 200,31 ± 104,39 | 0,303 ± 0,086 | 0,135 ± 0,016 | 0,057 ± 0,009 |
| 2 | 342,50 ± 139,50 | 0,448 ± 0,076 | 0,396 ± 0,086 | 0,082 ± 0,003 |
| 1 | 325,16 ± 127,98 | 0,521 ± 0,148 | 0,210 ± 0,025 | 0,081 ± 0,007 |
| 2 | 379,43 ± 59,64 | 0,531 ± 0,080 | 0,268 ± 0,053 | 0,071 ± 0,017 |
| 3 | 462,55 ± 127,89 | 0,467 ± 0,078 | 0,225 ± 0,053 | 0,095 ± 0,019 |

Keterangan :

Notasi huruf yang berbeda menyatakan adanya perbedaan yang signifikan pada taraf kepercayaan $\alpha = 0,05$

- 1 : Kontrol (1 ml minyak kelapa)
- 2 : Ethynil estradiol 0,06 ug / 1 ml minyak kelapa
- 1 : Ekstrak daun wungu 0,50 mg / 1ml minyak kelapa
- 2 : Ekstrak daun wungu 0,75 mg / 1 ml minyak kelapa
- 3 : Ekstrak daun wungu 1,00 mg / 1 ml minyak kelapa



gambar 5.1.1. Diagram batang dari diameter puting (A), diameter saluran susu (B), Tebal lapisan epitel ujung saluran susu (C), dan tebal lapisan epitel saluran susu (D) pada kelenjar mammae antar kelompok perlakuan (K1, K2, P1, P2, dan P3)

Dari hasil uji ANOVA untuk diameter puting dan diameter saluran susu diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, dengan signifikansi masing-masing sebesar 0,011 (untuk diameter puting) dan 0,003 (untuk diameter saluran). Dan setelah diuji dengan Beda nyata terkecil (BNT), maka diketahui bahwa pada diameter puting, perlakuan ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 0,75 dan 1 mg yang memberikan perbedaan pengaruh dibandingkan dengan kontrol perlakuan dengan pelarut yaitu minyak ikan). Setelah hasil uji dengan beda nyata terkecil (BNT) pada diameter saluran diketahui bahwa pada semua perlakuan ekstrak daun wungu menunjukkan perbedaan signifikan dengan kontrol (K1), dan menunjukkan kesamaan dengan perlakuan estradiol (K2).

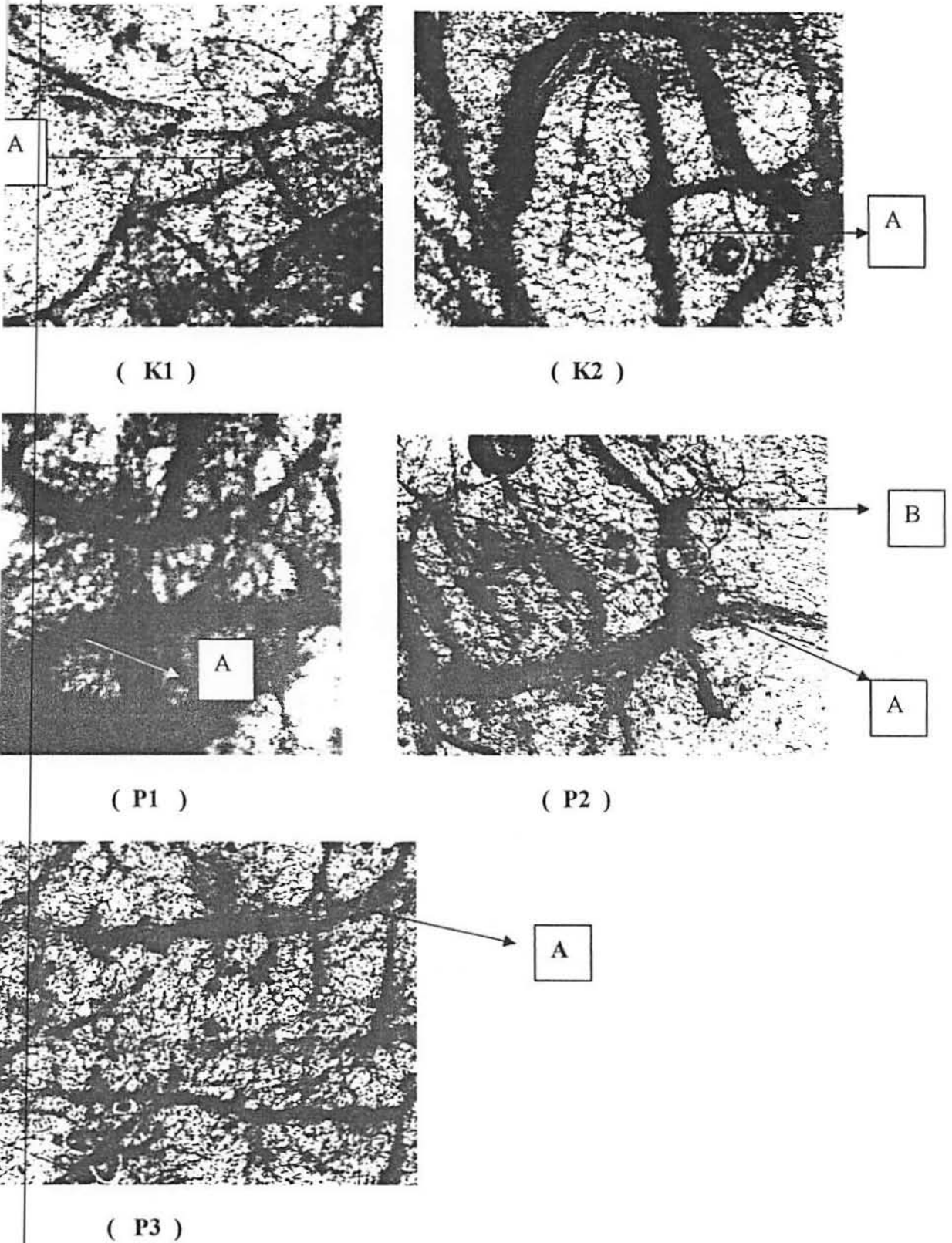
Untuk data ketebalan lapisan sel pada ujung saluran susu dan ketebalan lapisan sel sepanjang saluran menunjukkan kondisi tidak homogen, karena itu dilakukan analisa dengan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Dan hasilnya

unjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada data pertama dan kedua dengan kansi masing-masing 0.000 (untuk data ketebalan lapisan sel pada ujung saluran dan 0.002 (untuk data ketebalan lapisan sel sepanjang saluran susu).. Dan dari uji s – Howell diketahui bahwa terdapat perbedaan dari semua kelompok perlakuan wungu dibandingkan kontrol, kecuali untuk data ketebalan lapisan sel sepanjang n susu, pada perlakuan P2 tidak menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan l (signifikansinya 0.457).

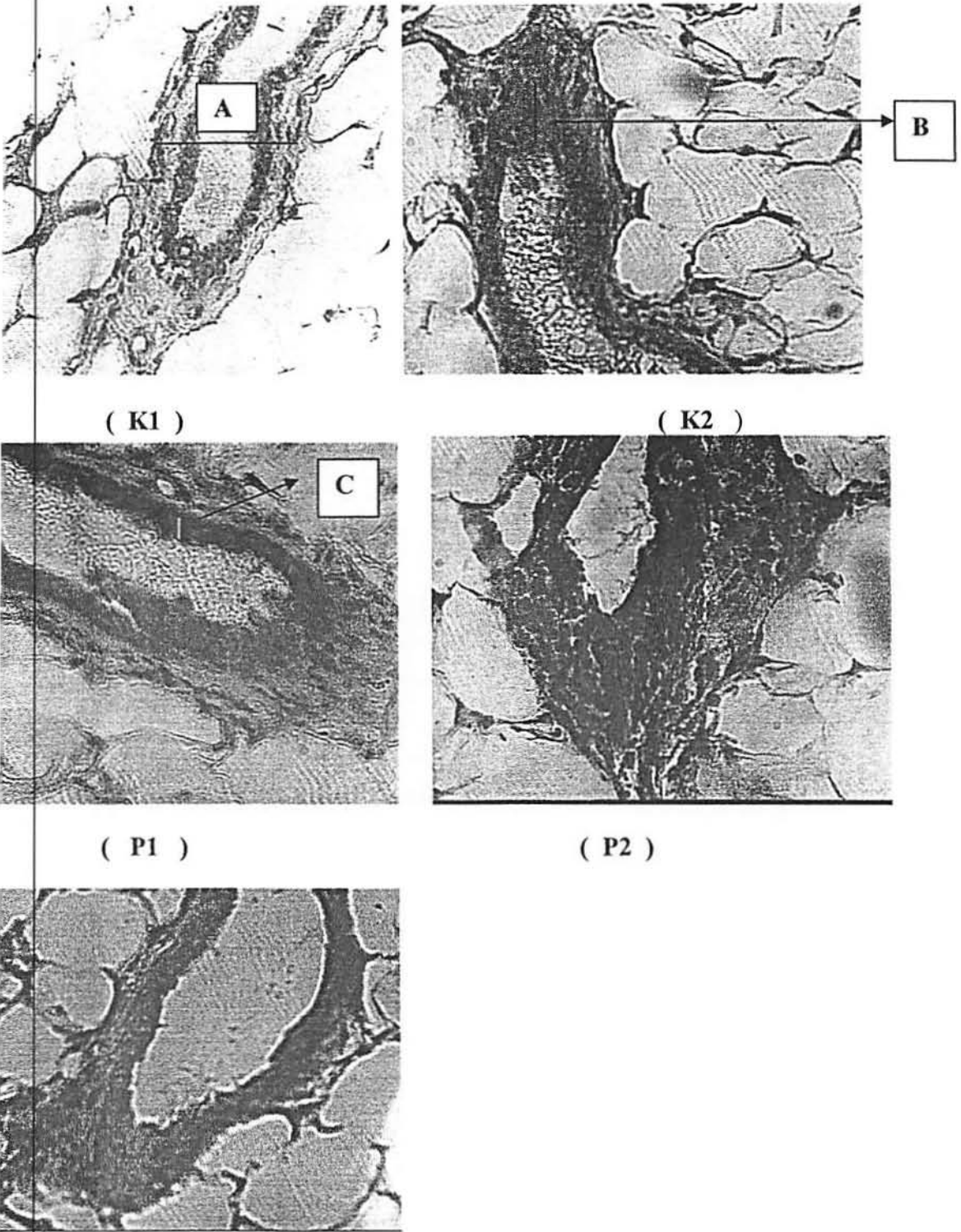
Dari semua data yang ada diketahui bahwa penambahan ekstrak daun wungu menunjukkan peningkatan jumlah sel sehingga meningkatkan diameter puting, diameter n, ketebalan lapisan sel pada saluran susu. Peningkatan jumlah sel menunjukkan a peningkatan aktivitas proliferasi sel yang dipengaruhi oleh bahan estrogenik berupa estradiol dan ekstrak daun wungu yang bersifat seperti estrogen.

Pada semua data hasil penelitian, kecuali pada data ketebalan sel ujung saluran ditunjukkan bahwa perlakuan dengan daun wungu dengan konsentrasi 0,5 mg, ng, dan 1 mg menghasilkan peningkatan proliferasi yang sebanding dengan hasil gkatan proliferasi oleh estradiol. Hal ini berarti bahwa ekstrak daun wungu unyai sifat estrogenik seperti estradiol. Pada data ketebalan sel ujung saluran susu, uan dengan estradiol menunjukkan penambahan sel yang lebih tinggi dibandingkan uan dengan ekstrak daun wungu. Hal ini menunjukkan bahwa estradiol sangat ngkatkan proliferasi sel-sel epitel pada ujung saluran kelenjar mammae.

Pada gambar 5.1.2. dapat dilihat adanya saluran susu pada preparat whole t, pada gambar ini juga terlihat adanya ujung saluran susu. Pada perlakuan dengan l *estradiol* (K2) terlihat adanya pembesaran dari saluran susu, juga pada perlakuan k daun wungu dengan konsentrasi 0,5mg, 0,75 mg dan 1 mg menunjukkan ya pembesaran saluran susu. Pada gambar 5.1.3. dapat dilihat perbedaan tebal n ujung saluran susu karena perlakuan dengan *ethinyl estradiol* dan ekstrak daun u bila dibandingkan dengan kontrol yang menunjukkan hanya satu lapisan epitel ujung saluran.



Gambar 5.1.2. Gambaran kelenjar mammae secara whole mount. A. saluran susu dari kelenjar mammae. B. Ujung saluran susu dari kelenjar mammae



5.1.3. Irisan melintang kelenjar mammae. (A) Diameter saluran susu pada kelenjar mammae, (B) Tebal lapisan sel epitel pada ujung saluran susu dari kelenjar mammae, (C) Tebal lapisan sel epitel sepanjang saluran susu dari kelenjar mammae

Pembahasan

Ekstrak daun wungu diketahui mengandung flavonoid dan phytosterol yang berperan dalam proliferasi sel. Flavonoid diketahui mempunyai struktur kimia menyerupai estradiol, sehingga flavonoid dapat terikat dengan reseptor estrogen selanjutnya mengaktifkan transkripsi gen-gen yang diperlukan untuk proliferasi sel organ target. Flavonoid termasuk fitoestrogen, yaitu bahan yang berasal dari tumbuhan dan bersifat seperti estrogen (Murkies, *et al.*, 1998).

Salah satu organ target dari reseptor estrogen adalah kelenjar mammae. Perubahan kelenjar mammae antara lain dipengaruhi oleh hormon estrogen, progesteron dan prolaktin. Kelenjar mammae mengalami perubahan setelah kelahiran. Pada permulaan pubertas, saluran susu memanjang dari areola puting menuju jaringan lemak. Ujung saluran membesar dan membentuk struktur seperti tonjolan yang dinamakan *terminal end buds (TEBs)*, yang mengandung banyak sel yang aktif melakukan mitosis. Hormon estrogen merangsang pemanjangan saluran susu pada pubertas. Induksi estrogen ini melalui reseptor estrogen α ($ER\alpha$) yang terletak pada sel-sel stroma (jaringan ikat) dan jaringan epitel (Mallepell, *et al.*, 2006).

Estrogen ditransportasi ke jaringan target dalam bentuk terikat dengan protein dan kemudian berdifusi ke dalam sel sebagai estrogen bebas (DiPalma dan DiGregorio, 1989). Estrogen terikat dengan reseptor estrogen di nucleus dan selanjutnya reseptor estrogen mengalami dimerisasi dan terikat dengan estrogen response elements (EREs) yang terletak pada promoter gen target dan selanjutnya menginduksi transkripsi gen-gen yang berhubungan dengan proliferasi sel (Bjornstrom dan Sjoberg, 2005). Flavonoid sebagai fitoestrogen juga bekerja seperti estrogen tetapi mempunyai efek estrogenik yang rendah dibandingkan dengan estradiol (Tham, *et al.*, 1998).

Daun wungu mengandung fitosterol yang mempunyai struktur mirip dengan kolesterol. Fitosterol juga dapat terikat dengan reseptor kolesterol di usus halus dan selanjutnya menuju ke darah dan terakumulasi ke dalam jaringan. Fitosterol berkompetisi dengan kolesterol untuk mengikat reseptor kolesterol. Kolesterol merupakan bahan dasar untuk sintesis estrogen, demikian juga fitosterol juga merupakan bahan dasar untuk

is estrogen melalui sintesis pregnenolon (Arthur, *et al.*, 1976). Dan *pregnenolon* akan menyawa antara yang dihasilkan pada tahap awal sintesis estrogen (DiPalma dan Gregorio, 1989). Pregnenolon dikonversi menjadi progesteron dan progesteron dikonversi menjadi androstenedion, selanjutnya menjadi estron. Pada wanitaopause, estrogen sirkulasi yang utama adalah estron. Estron dihasilkan dari konversasi androstenedione dalam jaringan perifer, terutama jaringan lemak dan otot. Jumlah produksi androstenedion adalah 2 mg hingga 4 mg setiap hari dan lebih dari 60% berasal dari sekresi kelenjar adrenal. Selanjutnya 1 hingga 2 % dari androstenedione dikonversi menjadi estron (DeGroot, 1995). Di dalam sel epitel estron dikonversi menjadi estradiol dengan enzim 17- β -HSD (17- β -*hydroxysteroid dehydrogenase*) dan menyebabkan peningkatan proliferasi sel epitel (Yen dan Jaffe, 1990). Hal ini berarti bahwa fitosterol dalam daun wungu dapat meningkatkan estradiol dan selanjutnya meningkatkan proliferasi sel-sel saluran susu pada kelenjar mammae.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil penelitian ini dapat disusun kesimpulan sebagai berikut :

Ekstrak etanol daun wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.} dapat menghambat proliferasi kelenjar mammae mencit betina ovariektomi, yang diamati pada peningkatan sekresi puting, diameter saluran susu, ketebalan sel sepanjang saluran susu dan pada diameter saluran susu.

Tidak ditemukan konsentrasi optimal yang paling berpengaruh terhadap penelitian ini, ketiga konsentrasi yang dipergunakan memberikan efek yang sama.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan untuk melakukan penelitian lanjut dengan memperpanjang waktu perlakuan dan meningkatkan dosis ekstrak wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.}, sehingga diharapkan dapat diketahui seberapa jauh sifat estrogenik ekstrak daun wungu ini tidak mengarah pada peningkatan proliferasi sel yang lebih tinggi dan diharapkan tidak mengarah pada pembentukan sel-sel abnormal.

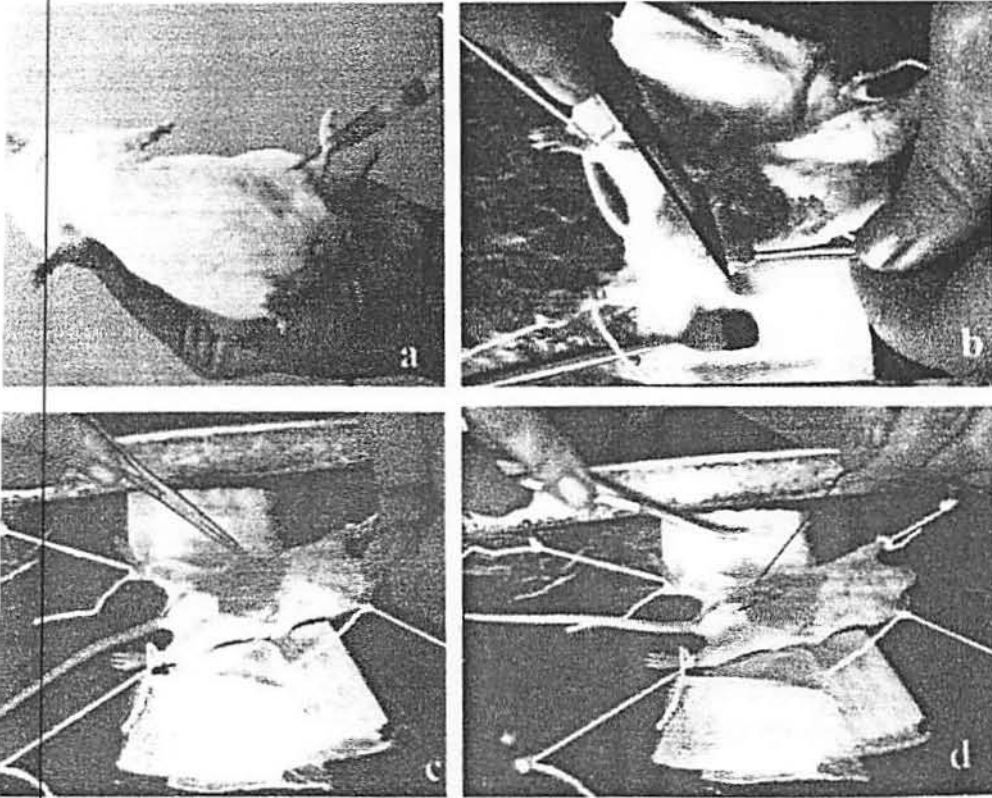
DAFTAR PUSTAKA

- n, L.R. 1999. *Kajian Flavonoid Daun Graptophyllum pictum Griff (Daun Wungu) Sebagai Analgesik dan Antiinflamasi Pada Tikus (Rattus rattus strain Wistar)*. Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA UNIBRAW.
- ; J.R., Blair, H.A.F., Boyd, G.S., Mason, J.I. dan Suckling, K.E. Oxidation of Cholesterol Analogues by Mitochondrial Preparation of Steroid Hormone-Producing Tissue. *Biochemistry Journal*. 158: 47-51.
- y, M.E., Boue, S.M., Collins-Burow, B.M., Melnik, L.L., Duong, B.N., Carter-Wientjes, C.H., Li, S., Wiese, T.E., Cleveland, T.E. dan McLachlan, J. 2001. Phytochemical Glycoceollins, Isolated from Soy, Mediate Antihormonal Effects Through Estrogen Receptor α and β . *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Vol. 86. No. 4. U.S.A. p. 1750-1757.
- d, Ali. 2003. *Menopause dan Andropause*. Penerbit Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. Jakarta. p. 7-38.
- strom, L. dan Sjoberg, M. 2005. Mechanism of Estrogen Receptor Signaling: Convergence of Genomic and Nongenomic Actions on Target Genes. *Molecular Endocrinology*. 19 (4) : 833-842.
- gemeier, R.W., Hacket, J.C. dan Dian-Cruz, E.S. 2005. Aromatase Inhibitor in the Treatment of Breast Cancer. *Endocrine Reviews*. 26 (3) : 331-345.
- li, Vincenzo. 2008. *Guide to the Necropsy of The Mouse*. Division of Protection of Man and Ecosystem, ENEA. CR-Cassaccia. Rome. Italy.
- oot, L.J. 1995. *Endocrinology*. Vol. 3. 3rd Ed. W.B. Saunders Company. P. 2128-2136.
- ma, J.R. dan DiGregorio, G.J. 1989. *Basic Pharmacology in Medicine*. 3rd Ed. McGraw-Hill Publishing Company. New York. p. 509-514.
- z B. dan Hafez, E.S.E. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th. Ed. Lippincott Williams & Wilkins. USA.
- n, A. dan Soedigdo, S. 1983. Penyelidikan Tentang Komponen Steroida dari Daun Handeuleum/Wungu : *Graptophyllum pictum* (L.) Griff. *Risalah Simposium Penelitian Tanaman Obat III*. Fakultas Farmasi. UGM. Yogyakarta.
- ratil, A. 2003. *Pemeriksaan Senyawa-Senyawa Turunan Fenol Daun Handeuleum (Graptophyllum pictum (L.) Griff.)*. National Institute of Helath Research and Development, NIHRD. Percetakan Negara 29. Jakarta..
- .H., Clausen, L.M., Alfred, K.F. , Almada, A.L. dan Helferich, W.G. 2008. β -Sitosterol Glucoside, and a Mixture of β -Sitosterol and β -Sitosterol Glucoside Modulate the Growth of Estrogen-Responsive Breast Cancer Cells in Vitro and in Ovariectomized Athymic Mice. *The Journal of Nutrition*. Jn.nutritionl. org. 5 Agustus. 1145- 1151.

- it, C.D. 1987. *Fundamental Techniques in Veterinary Surgery*. 3rd. Es. W.B. Saunders Company. Phyladelphia.
- go, Listijani. 2003. *Kajian Histologi Aktivitas Estrogenik Ekstrak Daun Handeuleum {Graptophyllum pictum (L.) Griff} Pada Saluran Reproduksi Mencit Betina. Terovarietomi*. Lembaga Penelitian UNAIR.
- es, A.L., Wilcox, G. dan Davis, S.R. 1998. Phytoestrogens. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. Vo. 83. No. 2. P. 297-303.
- pell, S., Krust, A., Chambon, P., dan Briskin, C. 2006. Paracrine Signaling Through The Epithelial Estrogen Receptor α Is Required for Proliferation and Morphogenesis in The Mammary Gland. *PNAS*. 14 (103) : 2196-2201.
- leton, E.A. , Chitan, K., dan Theoharis, C.T. 2000. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells Implication for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacological Reviews. The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 52 (4) : 673-751.
- laki, L., Beilby, I.O.W., Chowaniec, J., Coulson, W.F., Darby A.J. †, Newman J., A'Shea, A. †, Wykes, J.R. 1979. Hormon Replacement Therapy in The Menopause: A Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism Suitable Animal Model. *J. Endocr.* 83, 67- 77.
- , Robert. 1968. *The Mouse*. Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minn p. 41-43.
- at. A.M., Hofseth, L.J., Li, S.J., Bennett, J.M. dan Haslam, S.Z. 1999. A Mouse Model to Study the Effects of Hormone Replacement Therapy on Normal Mammary Gland during Menopause: Enhanced Proliferative Response to Estrogen in Late Postmenopausal Mice. *Endocrinology*. Vol. 140. No. 6. P. 2570-2580.
- ono, B. dan Wahyudi. 1983. Pemeriksaan Kandungan Kimia Daun Handeuleum {Graptophyllum pictum (L.) Griff.}. Departemen Research & Development. PT Natterman. Pusat Penelitian Botani Bogor. *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III*. Fakultas Farmasi. UGM. Yogyakarta.
- ahi, J. 2002. *Fitosterol dalam Margarine : Cara Efektif Menurunkan Kolesterol*. Laboratorium Kimia Bahan Makanan. Jurusan Farmasi. Fakultas MIPA. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- n, D.M., Gardner, C.D. dan Haskell, W.L. 1998. Potential Health Benefits of Dietary Phytoestrogens: *A Review of the Clinical, Epidemiological, and Mechanistic Evidence*. . 83 (7) : 2223-2233.
- nas, A.N.S. 1992. *Tanaman Obat Tradisional 2*. Kasinus. Yogyakarta.
- yakusuma, H., Dalimartha, S., Wirian, A.S. 1993. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Cetakan keempat. Penerbit Pustaka Kartini. Jakarta.
- S.S.C. dan Jaffe, R.B. 1991. *Reproductive Endocrinology*. W.B. Saunders Company. p. 321-326.

PIRAN 1

dur ovariektomi pada mencit



rangian :

embiusan dengan larutan ketalar

embedahan dan pengambilan ovarium kiri dan kanan

enjahitan irisan peritoneum dan otot dengan menggunakan benang catgut

enjahitan irisan kulit dengan menggunakan benang silk

iran 2

uji statistik data-data diameter puting, diameter saluran susu, ketebalan lapisan epitel pada ujung saluran susu, ketebalan lapisan sel epitel sepanjang saluran susu,

Normalitas semua data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| | | tebal lapisan sel ujung | tebal lapisan sel sal | diameter puting | diameter saluran |
|----------------------------------|----------------|-------------------------|-----------------------|-----------------|------------------|
| | | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Normal Parameters ^{a,b} | Mean | .24663 | .07697 | 342.33667 | .45357 |
| | Std. Deviation | .100422 | .017139 | 137.80459 | .123285 |
| Most Extreme Differences | Absolute | .122 | .162 | .077 | .131 |
| | Positive | .122 | .162 | .055 | .131 |
| | Negative | -.098 | -.154 | -.077 | -.100 |
| Kolmogorov-Smirnov Z | | .669 | .890 | .424 | .717 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | .762 | .407 | .994 | .682 |

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

terangan ;

data yang mempunyai signifikansi lebih dari 0,05 merupakan data normal

Descriptives

| | | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|------------------|-------|----|-----------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| apisan sel ujung | K1 | 6 | .13467 | .016008 | .008535 | .11787 | .15147 | .117 | .158 |
| | K2 | 6 | .39617 | .085728 | .034998 | .30620 | .48613 | .317 | .550 |
| | P1 | 6 | .20950 | .024882 | .010158 | .18339 | .23561 | .191 | .258 |
| | P2 | 6 | .26800 | .052881 | .021589 | .21250 | .32350 | .233 | .358 |
| | P3 | 6 | .22483 | .053109 | .021682 | .16910 | .28057 | .150 | .275 |
| | Total | 30 | .24663 | .100422 | .018334 | .20914 | .28413 | .117 | .550 |
| apisan sel sal | K1 | 6 | .05717 | .008886 | .003628 | .04784 | .06649 | .041 | .067 |
| | K2 | 6 | .08167 | .003266 | .001333 | .07824 | .08509 | .075 | .083 |
| | P1 | 6 | .08050 | .006863 | .002802 | .07330 | .08770 | .075 | .092 |
| | P2 | 6 | .07100 | .017088 | .006976 | .05307 | .08893 | .050 | .092 |
| | P3 | 6 | .09450 | .018748 | .007654 | .07482 | .11418 | .075 | .125 |
| | Total | 30 | .07697 | .017139 | .003129 | .07057 | .08337 | .041 | .125 |
| eter puting | K1 | 6 | 200.31333 | 104.393147 | 42.618324 | 90.75944 | 309.86722 | 100.000 | 340.000 |
| | K2 | 6 | 342.50000 | 139.501590 | 56.951286 | 196.10206 | 488.89794 | 187.500 | 562.500 |
| | P1 | 6 | 326.82500 | 127.983285 | 52.248957 | 192.51478 | 461.13522 | 148.750 | 502.500 |
| | P2 | 6 | 379.49167 | 59.640899 | 24.348295 | 316.90238 | 442.08095 | 320.630 | 450.000 |
| | P3 | 6 | 462.55333 | 127.885320 | 52.208983 | 328.34592 | 596.76075 | 260.000 | 577.500 |
| | Total | 30 | 342.33667 | 137.804587 | 25.159580 | 290.87959 | 393.79375 | 100.000 | 577.500 |
| eter saluran | K1 | 6 | .30133 | .085794 | .035025 | .21130 | .39137 | .183 | .400 |
| | K2 | 6 | .44833 | .076002 | .031028 | .36857 | .52809 | .358 | .575 |
| | P1 | 6 | .52100 | .148408 | .060587 | .36526 | .67674 | .350 | .692 |
| | P2 | 6 | .53050 | .079480 | .032448 | .44709 | .61391 | .458 | .625 |
| | P3 | 6 | .46667 | .077897 | .031801 | .38492 | .54841 | .367 | .592 |
| | Total | 30 | .45357 | .123285 | .022509 | .40753 | .49960 | .183 | .692 |

Test of Homogeneity of Variances

| | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|--------------|------------------|-----|-----|------|
| eter puting | 1.085 | 4 | 25 | .385 |
| eter saluran | 2.074 | 4 | 25 | .114 |

ANOVA

| | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|--------------|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| eter puting | Between Groups | 217462.8 | 4 | 54365.710 | 4.078 | .011 |
| | Within Groups | 333250.2 | 25 | 13330.007 | | |
| | Total | 550713.0 | 29 | | | |
| eter saluran | Between Groups | .203 | 4 | .051 | 5.338 | .003 |
| | Within Groups | .238 | 25 | .010 | | |
| | Total | .441 | 29 | | | |

diameter puting

| Jenis perlakuan | N | Subset for alpha = .05 | |
|-----------------|---|------------------------|-----------|
| | | 1 | 2 |
| | 6 | 200.31333 | |
| | 6 | 326.82500 | 326.82500 |
| | 6 | 342.50000 | 342.50000 |
| | 6 | | 379.49167 |
| | 6 | | 462.55333 |
| | | .053 | .072 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
 Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

diameter saluran

| Jenis perlakuan | N | Subset for alpha = .05 | |
|-----------------|---|------------------------|--------|
| | | 1 | 2 |
| | 6 | .30133 | |
| | 6 | | .44833 |
| | 6 | | .46667 |
| | 6 | | .52100 |
| | 6 | | .53050 |
| | | 1.000 | .194 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
 Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Test of Homogeneity of Variances

| | Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|-------------------|------------------|-----|-----|------|
| lapisan sel ujung | 3.178 | 4 | 25 | .031 |
| lapisan sel sal | 4.784 | 4 | 25 | .005 |

Kruskal-Wallis Test**Ranks**

| perlakuan | N | Mean Rank |
|-----------|----|-----------|
| K1 | 6 | 3.75 |
| K2 | 6 | 27.08 |
| P1 | 6 | 12.50 |
| P2 | 6 | 18.75 |
| P3 | 6 | 15.42 |
| Total | 30 | |

Test Statistics^{a,b}

| | |
|-------------|--------|
| | tebal |
| Square | 22.617 |
| | 4 |
| Asymp. Sig. | .000 |

· Kruskal Wallis Test

· Grouping Variable: perlakuan

**uji Mann Whitney antar kelompok perlakuan
tebal lapisan epitel ujung saluran susu**

| Kelompok Perlakuan | Signifikansi |
|--------------------|--------------|
| K1-K2 | 0,004 |
| K1-P1 | 0,004 |
| K1-P2 | 0,004 |
| K1-P3 | 0,008 |
| K2-P1 | 0,004 |
| K2-P2 | 0,013 |
| K2-P3 | 0,004 |
| P1-P2 | 0,024 |
| P1-P3 | 0,521 |
| P2-P3 | 0,630 |

Kal-Wallis Test

Ranks

| | perlakuan | N | Mean Rank |
|-----|-----------|----|-----------|
| ran | K1 | 6 | 5.17 |
| | K2 | 6 | 18.75 |
| | P1 | 6 | 17.25 |
| | P2 | 6 | 13.33 |
| | P3 | 6 | 23.00 |
| | Total | 30 | |

Test Statistics^{a,b}

| | saluran |
|---------|---------|
| Square | 14.571 |
| df | 4 |
| mp Sig. | .006 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

| ompok Perlakuan | Signifikansi |
|-----------------|--------------|
| K1-K2 | 0,003 |
| K1-P1 | 0,004 |
| K1-P2 | 0,196 |
| K1-P3 | 0,004 |
| K2-P1 | 0,523 |
| K2-P2 | 0,372 |
| K2-P3 | 0,241 |
| P1-P2 | 0,459 |
| P1-P3 | 0,156 |
| P2-P3 | 0,064 |