

- ACANTHACEAE
- HYPERPLASIA
- ENDOMETRIUM
- ANGE

IR-Perpustakaan Universitas Airlangga

double no



KKC
KK
LP. 23/09
Sun
P-2

LAPORAN PENELITIAN
DIPA UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2008

**PEMANFAATAN EKSTRAK ETANOL DAUN WUNGU
{*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.}
SEBAGAI INHIBITOR PEMBENTUKAN HIPERPLASIA
PADA ENDOMETRIUM MENCIT BETINA OVARIKTOMI**



Peneliti :

Dra. Listijani Suhargo, M.Si.

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA
Dibiayai oleh Dana DIPA Universitas Airlangga
SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 475/J03.2/PG/2008
Tanggal 12 Mei 2008

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
Nopember 2008

**HALAMAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN**

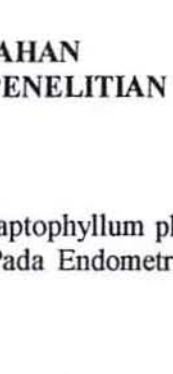
1. Judul :
Pemanfaatan Ekstrak Etanol Daun Wungu {*Graptophyllum phycatum* (L.) Griff.}
Sebagai Inhibitor Pembentukan Hiperplasia Pada Endometrium Mencit Betina
Ovariektomi

2. Ketua Pelaksana
 - a. Nama : Dra. Listijani Suhargo, M.Si.
 - b. Jenis kelamin : Wanita
 - c. Pangkat/gol./NIP : Penata tk. I/ gol. IIIId/ 131 801 395
 - d. Jabatan sekarang : Lektor
 - e. Fakultas : Sains dan Teknologi
 - f. Departemen : Biologi
 - g. Alamat Kantor : Departemen Biologi F. Sains dan Teknologi,
Jl. Mulyorejo (Kampus C Unair)
 - h. Telp/Fax/Email : 031-5936501

3. Jumlah Tim Peneliti : -
4. Jangka Waktu Kegiatan : 6 bulan
5. Lokasi Kegiatan : Jurusan Biologi FST UNAIR Surabaya
6. Biaya yang diperlukan : Rp. 10.000.000,-

Surabaya, 28 Nopember 2008


Mengetahui,
Dekan FST Universitas Airlangga


Drs. Salamun, M.Kes.
NIP. 131696506

Ketua Pelaksana,


Dra. Listijani Suhargo, M.Si.
NIP. 131 801 395

Mengetahui,
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat


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

RINGKASAN PENELITIAN

Judul : Pemanfaatan Ekstrak Etanol Daun Wungu (*Graptophyllum phytum* (L.) Griff.) Sebagai Inhibitor Pembentukan Hiperplasia Pada Endometrium Mencit Betina Ovariectomi

Ketua Peneliti : Listijani Suhargo

Sumber Biaya : Dana DIPA Universitas Airlangga
Nomor SK Rektor 667/J03.2/PG/2008

Daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) diketahui mengandung delapan macam senyawa steroid dan juga mengandung flavonoid. Ekstrak daun wungu juga diketahui dapat berpengaruh meningkatkan pertumbuhan uterus dan vagina pada mencit betina terovariectomi. Steroid dan flavonoid juga dapat bersifat sebagai antiestrogenik karena dapat terikat dengan reseptor estrogen dan melakukan kompetisi dengan estradiol dalam berikatan dengan reseptor estrogen.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan ekstrak etanol daun wungu (*Graptophyllum phytum* (L.) Griff.) sebagai inhibitor pembentukan hiperplasia pada endometrium mencit betina ovariectomi

Untuk mencapai tujuan tersebut maka dilakukan penelitian secara eksperimental murni, dengan rancangan acak lengkap di laboratorium Biologi Reproduksi FST 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, dan masing-masing 6 ekor mencit diberi ekstrak daun wungu (0,5 mg, 0,75 mg, 1 mg dan 1,25 mg) dalam 0,1 ml minyak kelapa. Semua kelompok diberi perlakuan dengan ethinyl estradiol dengan dosis 0,06 µg/mencit yang ditambahkan dalam semua larutan perlakuan. Perlakuan diberikan per oral dengan disonde selama 1 bulan.

Pada akhir penelitian, semua hewan dikorbankan dan diambil uterusnya (sebelah kanan bagian tengah) serta difiksasi dengan larutan Bouin. Irisan uterus dibuat preparat histologi dengan pewarnaan Hematoxylin dan Eosin. Untuk satu uterus dibuat 1 preparat, kemudian diperiksa kondisi hiperplasia endometrium. Keberadaan hiperplasia diamati dari diameter uterus, panjang tanduk uterus, tebal lapisan epitel endometrium, tebal lapisan epitel, dan persentase kelenjar abnormal. Pengamatan dilakukan pada tiga lapangan pandang. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji ANOVA untuk data diameter uterus dan tebal lapisan epitel endometrium dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Untuk data panjang tanduk uterus, tebal lapisan epitel kelenjar (karena tidak homogen) dianalisis dengan uji Robust dan dilanjutkan dengan uji t. Data persentase kelenjar abnormal dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

Dari hasil analisis data disimpulkan bahwa perlakuan dengan ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 0,5 mg, 0,75 mg, 1 mg dan 1,25 mg dapat menyebabkan penghambatan pembentukan hiperplasia pada endometrium mencit betina ovariectomi yang ditunjukkan dengan penurunan diameter uterus, tebal lapisan epitel endometrium, tebal lapisan epitel kelenjar dan persentase kelenjar abnormal. Dan ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 0,75 mg yang menunjukkan pengaruh penghambatan hiperplasia yang optimal.

SUMMARY

Title : The Role of Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* (L.)
Griff.)
Ethanol Extract As Inhibitor For Endometrium Hyperplasia
In
Ovariectomized Mice
Head of researcher : Listijani Suhargo
Member of researcher : -
Source of grand : Dana DIPA Universitas Airlangga
Nomor SK Rektor 475/J03.2/PG/2008

The researches of traditional drugs need to be developed for getting the variation of drugs that are useful for health. Many of traditional drugs come from plants. One of that medicinal plant is daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) Daun wungu contains eight steroid compounds (Hakim and Soedigdo, 1983) and flavonoid (Isnawati, 2003). In the last research showed that daun wungu ethanol extracts can increased epithelial cell proliferation of endometrium in ovariectomized mice, but at 0,75 mg concentration of daun wungu extract, it inhibited uterus growth (Suhargo, 2003).

So that this research is aimed at the role of daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) ethanol extracts as inhibitor for endometrium hyperplasia in ovariectomized mice. So the experimental research is done, with complete random design in the laboratory of biology reproduction, FST, Airlangga University. In this research, thirty mice is used and they are divided in five groups, in the first group, six mice are given 0,1 ml coconut oil, and the others four groups with six mice in each group are given with daun wungu extract in 0,5 mg, 0,75 mg, 1 mg and 1,25 mg in 0,1 ml coconut oil. All of groups are added with ethynil estradiol in 0,06 ug concentration. All of the treatment is done per oral for thirty days.

At the end of this research, all animals are sacrificed and the uterus cornua (in the right cornua at the middle piece) are taken and are fixed in Bouin Solution. Then the section of uterus are made with Hematoxyline and Eosin staining for histology examination. The measurement with micrometer is done for diameter of the uterus, the thickness of epithelial linings of endometrium, the thickness of epithelial linings of endometrium glands, and the percentage of abnormal gland. the data of uterus diameter and the thickness of epithelial linings of endometrium were analyzed with ANOVA for and then with LSD test, then the data of , the thickness of epithelial linings of endometrium glands and the length of uterus cornua (because they aren't homogen) so were analyzed with Robust test and then with t test. The percentage of abnormal gland were analyzed with Kruskal-Wallis test and then with Mann-Whitney test.

The result showed that daun wungu extract in the concentration of 0,5 mg, 0,75 mg, 1 mg dan 1,25 mg could inhibit endometrium hyperplasia and they are showed in decreasing in uterus diameter, the thickness of epithelial linings of endometrium, the thickness of epithelial linings of endometrium gland and the abnormal gland percentage if they are compared with control. And 0,75 mg concentration of daun wungu extract is the optimal concentration as inhibitor for endometrium hyperplasia.

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur ke hadapan Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya, yang telah memberikan ketabahan dan kekuatan kepada 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.

Kami menyadari adanya keterbatasan kemampuan, pengetahuan dan pengalaman, oleh karenanya dalam penulisan ini pasti masih banyak kekurangannya. Demi untuk kesempurnaan tulisan ini, kami sangat mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun.

Akhir kata kami berharap semoga laporan penelitian yang sederhana ini dapat menunjang perkembangan ilmu pengetahuan di masa yang akan datang.

Surabaya, Nopember 2008.

Peneliti.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN PENELITIAN.....	iii
SUMMARY.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Permasalahan.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Hipotesis Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Tinjauan Tentang Daun wungu	5
2.2. Flavonoid dan Fitosterol.....	6
2.3. Struktur Uterus menci.....	8
2.4. Pengaruh Penggunaan Estrogen Pada Uterus.....	9
2.5. Tipe-tipe Kelenjar Pada Endometrium.....	10
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	12
3.1. Tujuan Penelitian.....	12
3.2. Manfaat Penelitian.....	12
BAB IV. METODE PENELITIAN.....	13
4.1. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	13
4.2. Materi Penelitian.....	13
4.3. Peralatan Penelitian.....	14
4.3. Persiapan Penelitian.....	14
4.4. Prosedur Penelitian.....	15
4.4. Analisis Data.....	16
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	17
5.1. Hasil Penelitian.....	17
5.2. Pembahasan.....	24
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	27
6.1. Kesimpulan.....	27
6.2. Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA.....	28
LAMPIRAN.....	30

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
bar 2.1.1. Tanaman daun wungu { <i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff}.....	6
bar 2.2.1. Kerangka struktur flavonoid.....	7
bar 2.3.1. Struktur irisan melintang uterus mencit.....	9
bar 2.5.1. Bentuk-bentuk kelenjar.....	11.
bar 5.1.1. Diagram batang rata-rata diameter uterus (um) antar kelompok perlakuan.....	18
bar 5.1.2. Diagram batang rata-rata panjang tanduk uterus, tebal lapisan epitel endometrium dan tebal lapisan epitel kelenjar.....	18
bar 5.1.3. Diagram batang rata-rata persentase kelenjar abnormal antar kelompok perlakuan.....	19
bar 5.1.4. Bentuk-bentuk uterus yang masih menyatu dengan vagina pada Perlakuan K, P1, P2, P3 dan P4.....	20
bar 5.1.5. Irisan melintang uterus pada perlakuan K, P1, P2, P3 dan P4.....	21
bar 5.1.6. Kondisi tebal lapisan epitel endometrium pada perlakuan K, P1, P2, P3 dan P4.....	22
bar 5.1.7. Bentuk-bentuk kelenjar endometrium	23

BAB I PENDAHULUAN

1. Latar Belakang Permasalahan

Sebagai negara yang memiliki kekayaan flora nomor dua di dunia, Indonesia yakini memiliki berbagai macam tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat termasuk obat untuk pencegahan dan pengobatan tumor dan kanker. Akan tetapi dalam nyataannya 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 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 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 dipertanggungjawabkan, maka diperlukan penelitian di bidang farmakologi, toksikologi, identifikasi dan isolasi bahan aktifnya. Salah satu tanaman obat yang 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. Dalam penelitian ini, daun wungu digunakan untuk pencegahan perkembangan tumor, khususnya tumor pada endometrium, yang ditandai antara lain dengan peningkatan proliferasi sel epitel endometrium. Salah satu pemacu terjadinya peningkatan proliferasi (hiperplasia) adalah bahan estrogenik yaitu hormon estrogen yang dihasilkan oleh



arium dan jaringan perifer atau ditambahkan melalui oral atau injeksi pada terapi hormon.

Terapi hormon biasanya dilakukan oleh wanita menopause untuk mengatasi keluhan menopause. Keluhan menopause terjadi akibat turunnya kadar estrogen setelah ovarium tidak menghasilkan sel telur. Beberapa keluhan pada wanita menopause antara lain timbulnya gejala panas (*hot flushes*), jantung berdebar-debar, gangguan tidur, tekanan darah tinggi, mudah tersinggung, sakit kepala, kesemutan, gangguan libido, obstipasi, berat badan bertambah dan nyeri tulang serta otot. Estrogen juga dapat mencegah osteoporosis dan penyakit jantung koroner yang dialami wanita menopause (Baziad, 2003).

Tidak semua wanita menopause mengalami keluhan menopause akibat turunnya kadar estrogen, karena estrogen juga dapat dihasilkan oleh jaringan perifer (lemak dan otot). Estrogen dihasilkan dari konversi *androstenedione* yang berasal dari kelenjar adrenal. Selanjutnya dengan enzim aromatase yang dihasilkan oleh jaringan perifer, *androstenedione* dikonversi menjadi estrogen. Pada wanita menopause, peningkatan kadar estrogen dari sintesis estrogen tidak disertai mekanisme umpan balik negatif yang dapat menurunkan kadar estrogen. Akibatnya terjadi peningkatan kadar estrogen.

Akibat penambahan estrogen dari luar pada terapi hormon atau peningkatan kadar estrogen dari sintesis estrogen (oleh jaringan perifer) dapat meningkatkan proliferasi sel (dapat terjadi hiperplasia). Hiperplasia endometrium dapat menyebabkan terjadinya perdarahan yang melebihi kondisi menstruasi. Kondisi ini sangat berbahaya bagi wanita, disamping itu hiperplasia endometrium dapat berkembang menjadi karsinoma endometrium (kanker endometrium) (Gunin, *et al.*, 2005).

Pada wanita usia reproduktif, ada mekanisme umpan balik negatif untuk menurunkan kadar estrogen yang meningkat. Mekanisme itu disebabkan karena adanya progesteron. Secara normal pada wanita yang belum menopause, hiperplasia endometrium dihambat dengan adanya progesteron yang dihasilkan oleh korpus luteum setelah ovulasi. Progesteron diketahui dapat menurunkan reseptor estrogen, sehingga mengurangi estrogen yang masuk ke dalam sel target. Wanita menopause tidak menghasilkan progesteron, sehingga peningkatan kadar estrogen dapat menimbulkan hiperplasia endometrium (Yen dan Jaffe, 1991).

Untuk mencegah terjadinya hiperplasia endometrium, terapi estrogen diselingi dengan progesteron. Tetapi penggunaan kombinasi progesteron dan estrogen dapat menimbulkan kanker kelenjar mammae. Di samping itu progesteron mempunyai efek samping antara lain pendarahan, depresi dan atrofi vagina (Andreen, *et al.*, 2003)

Agar kualitas kesehatan wanita menopause dapat tetap terpelihara maka diteliti penggunaan bahan alam yaitu daun wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff. } untuk mengurangi pengaruh estrogen yang berasal dari sintesis estrogen di jaringan perifer, terapi hormon, atau dari makanan, sehingga dapat menghambat hiperplasia endometrium.

Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa daun wungu mempunyai efek estrogenik pada endometrium pada konsentrasi 0,5 mg. Pada pemberian daun wungu dengan konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 0,75 mg, menunjukkan penghambatan pertumbuhan uterus sebesar 9 %. Hal ini menunjukkan adanya efek antiestrogenik (Suhargo, 2003). Oleh karena itu dalam penelitian diteliti pengaruh antiestrogenik daun wungu pada mencit diovariectomi yang diberi tambahan *ethynil estradiol*.

2. Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol daun wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff} dapat menghambat pembentukan hiperplasia pada endometrium mencit betina ovariektomi ?

Berapa konsentrasi ekstrak daun wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff} yang paling optimal untuk menghambat pembentukan hiperplasia pada endometrium mencit betina ovariektomi ?

3. Hipotesis Penelitian

Jika fitosterol dan flavonoid pada ekstrak daun wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.} dapat terikat dengan reseptor estrogen, maka akan terjadi kompetisi untuk mengikat reseptor estrogen pada mencit yang diberi perlakuan dengan estradiol dan selanjutnya terjadi penghambatan proliferasi dan pertumbuhan sel epitel pada kelenjar di endometrium.

- : **Tidak Ada pengaruh ekstrak etanol daun wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.} untuk menghambat pembentukan hiperplasia pada endometrium mencit betina ovariektomi**

- : **Ada pengaruh ekstrak etanol daun wungu {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.} untuk menghambat pembentukan hiperplasia pada endometrium mencit betina ovariektomi**

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1. Tinjauan Tentang Daun Wungu

Menurut Setiyono dan Wahyudi (1993) klasifikasi tanaman daun wungu sebagai berikut :

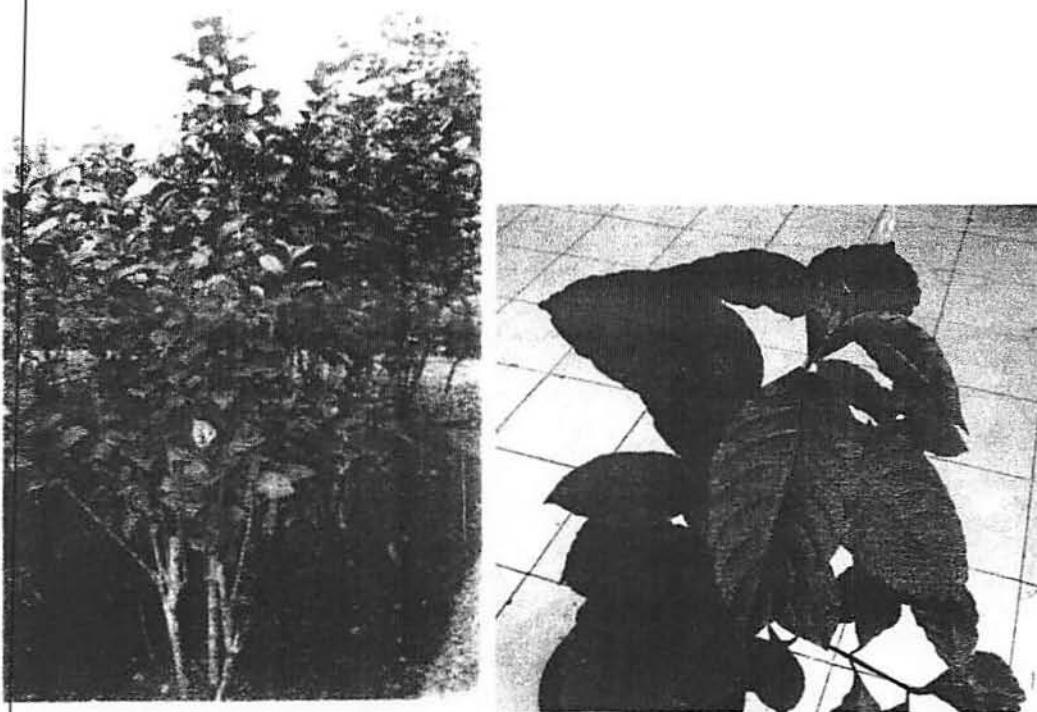
Divisi	: Embryophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Tubiflorae
Subordo	: Acanthineae
Familia	: Acanthaceae
Genus	: <i>Graptophyllum</i>
Spesies	: <i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff.

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 dan baunya kurang enak. Cabang bersudut empat berbentuk galah dan beruas rapat. Daunnya merupakan daun tunggal dengan tangkai pendek yang bersilang berhadapan. Helaihan daunnya berbentuk bulat telur sampai lanset, ujung dan pangkalnya runcing dengan tepi bergelombang, panjangnya antara 8 cm sampai 20 cm. Sedangkan 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 (Wijayakusuma *et al.*, 1993). Morfologi tanaman daun wungu dapat dilihat pada gambar 2.1.1.

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

enyawa steroid. Salah satu jenis steroid yang terdapat pada daun ini adalah fitosterol yang merupakan komponen penyusun steroid terbanyak. Dari penelitian yang dilakukan Kusumawati (2003) diketahui kandungan kimia yang lain dari daun wungu yaitu flavonoid, glikosianin dan leukoantosianin. Flavonoid yang terkandung dalam daun wungu adalah quercetin dan kaempferol (Kusumawati *et al.*, 2002).

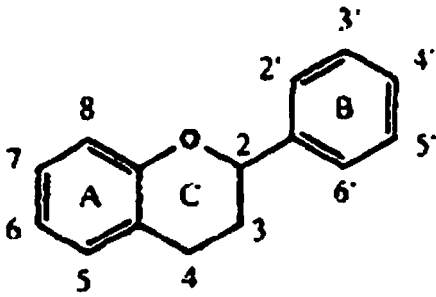
Adanya berbagai senyawa kimia yang terkandung dalam daun wungu memungkinkan untuk dapat dimanfaatkan sebagai obat. Pemanfaatannya selama ini untuk menyembuhkan wasir, bisul, borok, bengkak, terpukul, sembelit, sakit telinga dan untuk melancarkan haid (Wijayakusuma *et al.*, 1993).



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

2.2. Flavonoid dan Fitosterol

Flavonoid mencakup flavon, isoflavon, flavanon dan flavonol (Brueggemeier *et al.*, 2000). Struktur dasarnya terdiri dari dua cincin aromatik (cincin A dan cincin B) yang dihubungkan dengan rantai tiga karbon alifatik (C2, C3 dan C4) (Sunkawa, 1999). Hal ini dapat dilihat pada gambar 2.2.1.



Flavonoid

ambar 2.2.1. Kerangka struktur flavonoid (Sunkawa, 1999).

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. Flavonoid dapat berkompetisi dengan 17β -estradiol dalam mengikat reseptor estrogen sehingga dapat menurunkan kadar 17β -estradiol yang terikat dengan reseptor. Proliferasi sel sangat dipengaruhi oleh 17β -estradiol, sedang flavonoid mempunyai pengaruh proliferasi sel yang lebih rendah. Dengan adanya flavonoid, maka ada hambatan peningkatan proliferasi sel akibat pengaruh 17β -estradiol (Middleton *et al.*, 2000).

Fitosterol mempunyai 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). Fitosterol diketahui berpengaruh pada sistem reproduksi hewan. Fitosterol 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 payudara mammae manusia, yang banyak digunakan untuk uji estrogenik suatu bahan secara in vitro (Ju, *et al.*, 2008). Ekstrak heksan dari daun wungu yang terutama mengandung steroid (antara lain fitosterol) diketahui dapat meningkatkan proliferasi sel epitel endometrium pada konsentrasi 0,5 mg, tetapi pada konsentrasi 0,75 mg terjadi penghambatan proliferasi sel epitel endometrium (Suhargo, 2003).

Peranan penghambatan proliferasi sel oleh fitosterol sehubungan dengan kemampuan fitosterol untuk berikatan dengan reseptor kolesterol dan menyebabkan menurunnya kolesterol yang dapat terserap oleh usus halus. Kolesterol diketahui sebagai bahan dasar untuk sintesis estrogen.

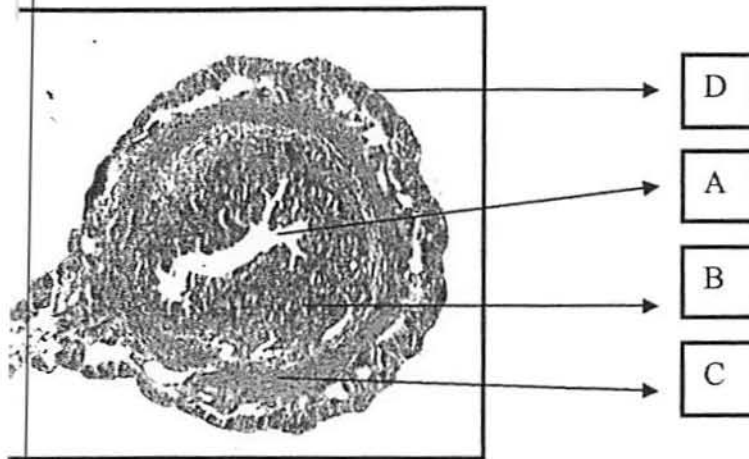
3. Struktur Uterus Mencit

Dinding uterus terdiri dari tiga lapisan yaitu lapisan perimetrium, lapisan miometrium dan lapisan endometrium. Lapisan perimetrium atau membrane serosa merupakan pembungkus dari uterus yang terdiri dari jaringan ikat (Hafez, 1970).

Menurut Leeson et al., (1993) perimetrium merupakan lapisan serosa khas terdiri atas selapis sel mesotel yang ditopang oleh jaringan ikat tipis yang di kiri kanannya melanjutkan diri menjadi ligamentum latum.

Lapisan miometrium merupakan lapisan otot yang terdiri dari tiga lapis yaitu lapisan otot paling dalam tersusun melingkar, lapisan otot paling luar tersusun membujur, lapisan vaskuler yang mengandung arteri besar, vena, dan pembuluh limfe. Miometrium merupakan lapisan paling tebal dari kedua lapisan yang lain. Serat otot tersusun dalam berkas-berkas yang satu sama lain dipisahkan oleh jaringan ikat. Masing-masing serat panjangnya beragam antara 40 – 90 μm (Partodihardjo, 1980).

Lapisan endometrium terdiri dari epithelium yang membatasi lumen, jaringan ikat, pembuluh darah, dan kelenjar uterus. Endometrium mempunyai epitel permukaan selapis silindris atau kolumnar simplek. Kelenjar uterus merupakan komponen terpenting dari endometrium (Partodihardjo, 1980). Struktur uterus mencit dapat dilihat pada gambar 2.3.1.



Gambar 2.3.1. Struktur irisan melintang uterus mencit. A. Lumen, B. endometrium, C. miometrium, D. Perimetrium (Suhargo, 2003).

4. Pengaruh Penggunaan Estrogen Pada Uterus

Satu aspek utama dari kerja estrogen pada uterus adalah pengaruhnya pada proliferasi sel-sel uterus. Estrogen sangat meningkatkan aktifitas proliferasi semua lapisan uterus. Estrogen juga menyebabkan perubahan morfogenetik yang meliputi perubahan tipe sel epitel pada luminal dan kelenjar, jumlah dan bentuk kelenjar, perbandingan jumlah kelenjar dengan jaringan ikat dan morfologi sel epitel (Gunin, *et al.*, 2001).

Pada uterus yang normal, lumen dan kelenjar dilapisi oleh sel epitel sederhana atau kolumnar berlapis semu, tetapi setelah penambahan estrogen secara terus menerus, lapisan epitelnya meningkat dan seringkali menunjukkan bentuk sel yang tidak teratur (Gunin, *et al.*, 2001).

Pada uterus normal, kelenjar berbentuk tabung yang dipisahkan oleh jaringan ikat atau stroma. Dengan pemberian estrogen, meningkatkan jumlah kelenjar, sehingga jaringan ikat menurun. Dan selanjutnya dijumpai kelenjar-kelenjar dengan bentuk abnormal. Perubahan-perubahan ini dihubungkan dengan peningkatan proliferasi atau disebut hiperplasia dan dapat menyebabkan pembentukan sel kanker (Gunin, *et al.*, 2001).

5. Tipe-tipe Kelenjar Pada Endometrium

Dengan adanya pengaruh estrogen terjadi pertumbuhan sel epitel pada kelenjar uterus. Penambahan estrogen dengan dosis yang meningkat dan waktu pemberian yang semakin lama, akan meningkatkan pertumbuhan sel epitel tersebut sehingga membentuk kondisi hiperplasia dan pengaruh estrogen yang semakin meningkat akan mengarah pada terbentuknya sel kanker pada sel epitel (karsinoma) (Gunin, *et al.*, 2001).

Berdasarkan peningkatan pertumbuhan sel epitelnya, kelenjar pada endometrium dikelompokkan menjadi 4 kelompok (dilihat pada gambar 2.4.1.) yaitu

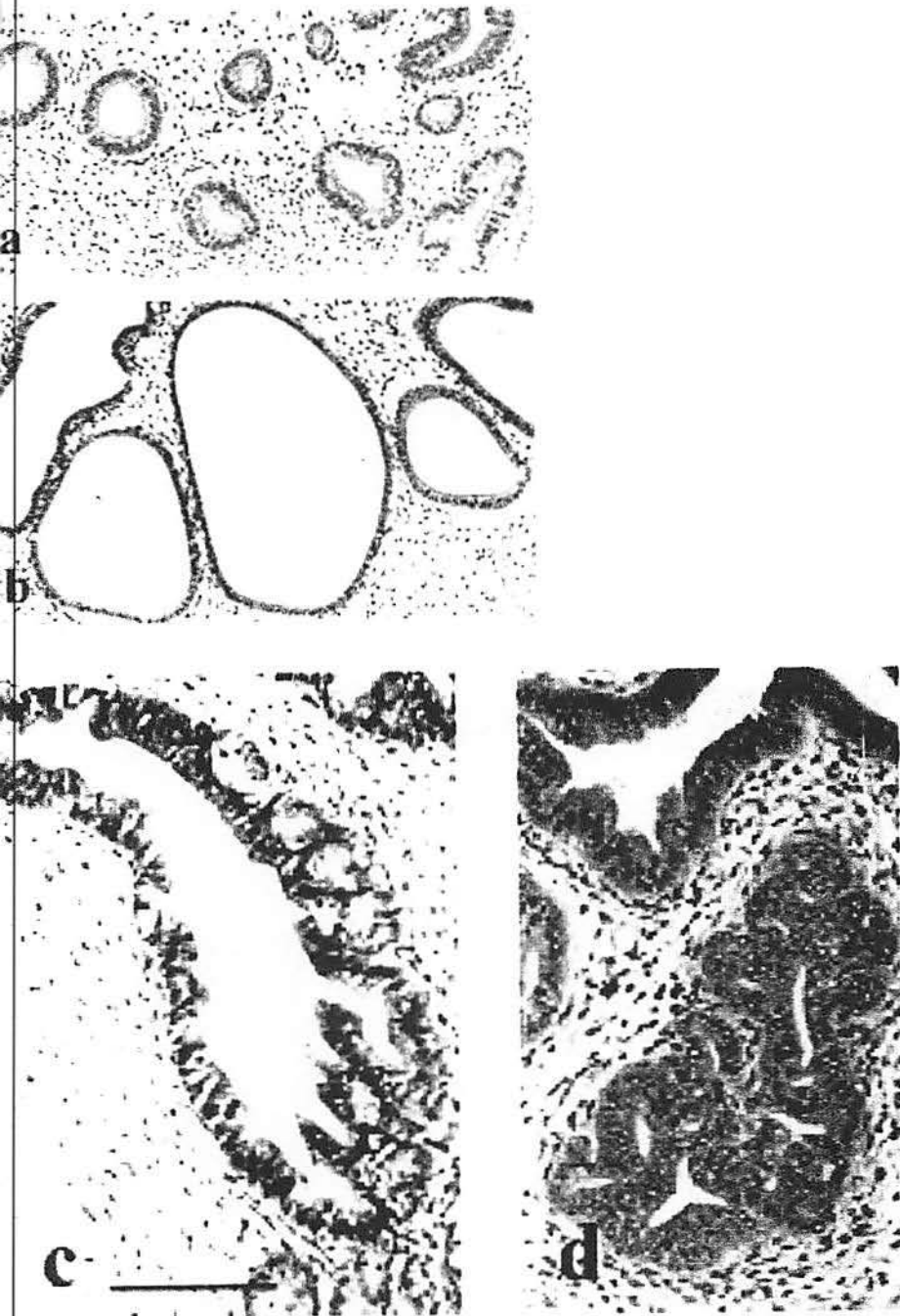
1. Kelenjar normal (gambar a), kelenjar berbentuk tabung sederhana, yang pada irisan nampak bulat, oval atau memanjang dan adanya lumen yang sempit. Pada tipe ini tidak ada percabangan pada kelenjar atau anak kelenjar,

2. Kelenjar sistik (gambar b), kelenjarnya membulat dan berukuran melebihi ukuran normal, pada irisan nampak lumen yang membesar dan sel epitel yang memipih karena terdesar oleh cairan dalam lumen,

3. Kelenjar dengan anak kelenjar (gambar c). Kelenjar ini mempunyai bervariasi bentuk (bulat, memanjang dan berliku-liku. Anak kelenjar terletak di dalam lumen kelenjar utama (seperti kelenjar yang bertunas).

4. Kelenjar konglomerat (gambar d), yaitu kelenjar yang arsitekturnya kompleks, kelenjar dengan banyak percabangan.

Tipe kelenjar 3 dan 4 dianggap berhubungan dengan perkembangan endometrium yang mengarah pada pembentukan sel kanker (Gunin, *et al.*, . 2001)



ambar 2.4.1. Bentuk-bentuk kelenjar, kelenjar normal (a) dan kelenjar abnormal (b, c dan d). b. kelenjar kista. c. kelenjar dengan anak kelenjar. d. kelenjar konglomerat (Gunin, *et al.*, . 2001).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

1.1. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan ekstrak etanol daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) sebagai inhibitor pembentukan hiperplasia pada endometrium setelah ovariectomi dan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun wungu yang paling optimal pengaruhnya.

1.2. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat bagi wanita menopause agar terhindar dari hiperplasia endometrium yaitu dengan memanfaatkan ekstrak daun wungu untuk menghambat peningkatan proliferasi (hiperplasia) sel-sel pada endometrium.



BAB IV

METODE PENELITIAN

1. Lokasi dan Waktu Penelitian

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

2. Materi Penelitian

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.

2.2. Ekstrak Daun Wungu

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

2.3. Ethinyl estradiol

Ethinyl estradiol yang digunakan terkandung dalam tablet lynoral, dalam 1 tablet lynoral terkandung 50 µg ethinyl estradiol. Dalam penelitian ini seekor mencit mendapat perlakuan ethinyl estradiol dengan konsentrasi 0,06 µg yang dilarutkan dalam pelarut minyak kelapa dan diberikan peroral dengan sonde.

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 uterus (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

Pembuatan ekstrak daun wungu mengacu pada Arifatin (1999). 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.

4.2. Ovariektomi hewan coba

Ovariektomi hewan coba mengacu pada Knecht (1987), Hewan dibius dengan ketalar sebanyak 0,5 cc dengan dosis 10 mg per kg berat badan, ditelentangkan di bak, dilakukan pemotongan bulu di sekitar garis tengah perut bawah, diolesi dengan betadine pada garis tengah itu, dan dibuat irisan, isi perut dikeluarkan dan ditetesi larutan garam fisiologis, dilakukan pengikatan pada tuba falopii dengan benang *cat gut*, dan selanjutnya dilakukan pemotongan ovarium, semua isi perut dikembalikan dan

lanjutnya irisan ditutup dengan jahit, pada akhir operasi, kemudian tempat jahitan diberi betadine dan serbuk antibiotika (Nebacetin).

5. Prosedur Penelitian

Pada penelitian ini digunakan 50 ekor mencit yang dibagi menjadi 5 kelompok (masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor mencit) yang meliputi :

kelompok 1 (K) : diberi 1ml minyak kelapa

kelompok 2 (P1) : diberi ekstrak daun wungu 0,5 mg / 1ml minyak kelapa

kelompok 3 (P2) : diberi ekstrak daun wungu 0,75 mg / 1 ml minyak kelapa

kelompok 4 (P3) : diberi ekstrak daun wungu 1 mg / 1 ml minyak kelapa

kelompok 5 (P4) : diberi ekstrak daun wungu 1,25 mg / 1 ml minyak kelapa

Untuk semua kelompok perlakuan (kelompok 1 hingga kelompok 5) diberikan tambahan *ethinyl estradiol* dengan dosis 0,06 ug/mencit untuk menimbulkan kondisi hiperplasia endometrium (Gunin, *et al.*, 2005). Perlakuan dengan ekstrak etanol daun wungu dan *ethinyl estradiol* dilakukan setiap hari per oral dengan disonde selama 30 hari.

Pada akhir percobaan, semua hewan dikorbankan dan diambil uterusnya (sebelah kanan bagian tengah) serta difiksasi dengan larutan Bouin. Irisan uterus dibuat preparat histologi dengan pewarnaan Hematoxylin dan Eosin. Untuk satu uterus dibuat 1 preparat, kemudian diperiksa pembentukan hiperplasia. Keberadaan hiperplasia diamati dari diameter uterus, panjang tanduk uterus, tebal lapisan epitel endometrium, tebal lapisan epitel kelenjar, dan persentase jumlah kelenjar abnormal. Pengamatan dilakukan pada tiga lapangan pandang.

1.6. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa nilai rata-rata diameter uterus dan tebal lapisan epitel endometrium untuk setiap kelompok dianalisis dengan menggunakan Analisis Variansi (ANOVA) dengan taraf signifikansi pada $\alpha = 0,05$ dan bila terdapat perbedaan signifikan, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Untuk data panjang kornua uterus, tebal lapisan epitel kelenjar, karena kedua data tidak homogen, maka dianalisis dengan uji Robust dan dilanjutkan dengan uji t. Data persentase kelenjar abnormal persentasi kelenjar abnormal 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 uterus, panjang tanduk uterus, tebal lapisan epitel endometrium, tebal lapisan epitel kelenjar uterus, dan persentase kelenjar abnormal yang ditunjukkan pada tabel berikut ini.

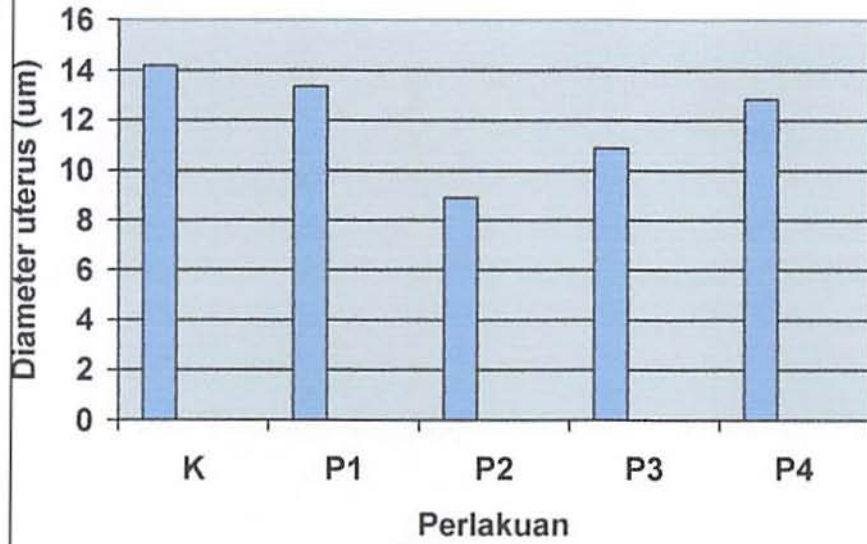
Tabel 5.1.1. Data hasil pengukuran diameter (μm), panjang tanduk (mm), tebal lapisan epitel endometrium (μm), tebal lapisan epitel kelenjar (μm), dan penghitungan persentase kelenjar abnormal dari endometrium

Perlakuan	Diameter Uterus (μm)	Panjang Tanduk Uterus (mm)	Tebal Lap. epitel Endometrium (μm)	Tebal Lap. epitel Kelenjar (μm)	Persentase Kelenjar Abnormal
K	$14,188 \pm a$ 2,054	$1,405 \pm a$ 0,231	$0,663 \pm a$ 0,159	$0,204 \pm a$ 0,100	$86,41 \pm a$ 8,31
P1	$13,354 \pm a$ 1,619	$1,198 \pm a$ 0,302	$0,371 \pm bc$ 0,102	$0,102 \pm b$ 0,021	$12,62 \pm b$ 9,56
P2	$8,896 \pm b$ 1,720	$1,263 \pm a$ 0,093	$0,292 \pm c$ 0,040	$0,103 \pm bc$ 0,040	$15,18 \pm b$ 10,84
P3	$10,896 \pm bc$ 1,720	$1,178 \pm a$ 0,170	$0,458 \pm b$ 0,113	$0,153 \pm c$ 0,060	$16,19 \pm b$ 11,45
P4	$12,846 \pm ac$ 1,866	$1,292 \pm a$ 0,132	$0,363 \pm bc$ 0,149	$0,167 \pm b$ 0,023	$19,64 \pm b$ 6,67

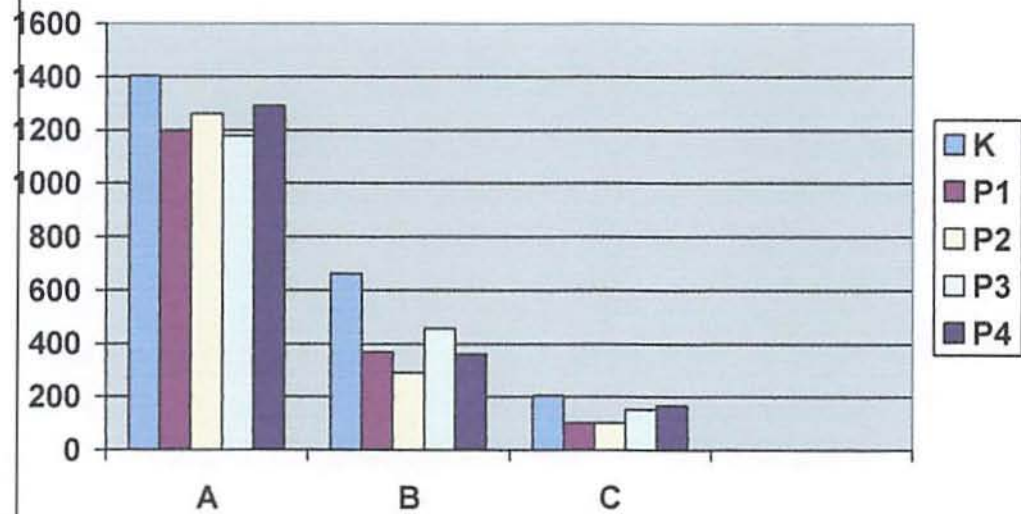
Keterangan :

Notasi huruf yang berbeda menyatakan adanya perbedaan dengan taraf signifikansi , $\alpha = 0,05$.

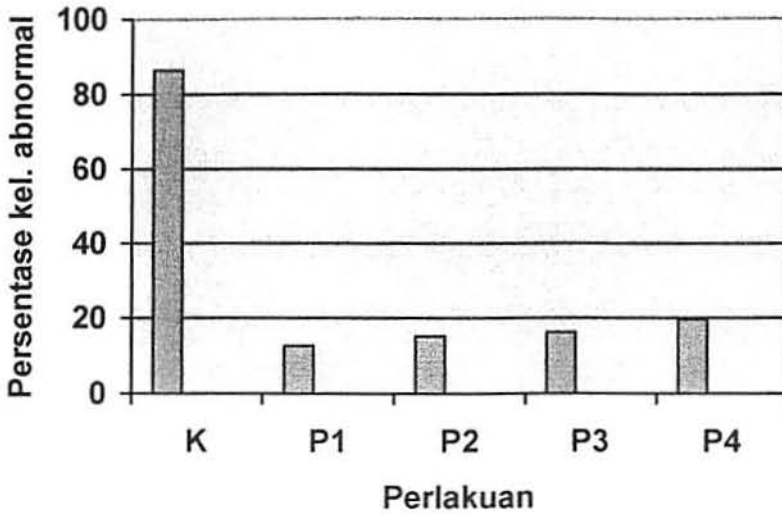
- K : Kontrol
- P1 : Ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 0,5 mg
- P2 : Ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 0,75 mg
- P3 : Ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 1 mg
- P4 : Ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 1,25 mg



ambar 5.1.1. Diagram batang rata-rata diameter uterus (um) antar kelompok perlakuan



ambar 5.1.2. Diagram batang rata-rata panjang tanduk uterus, tebal lapisan epitel endometrium dan tebal lapisan epitel kelenjar. A : panjang tanduk uterus (um), B : tebal lapisan epitel endometrium (nm) dan C : tebal lapisan epitel kelenjar (nm) .

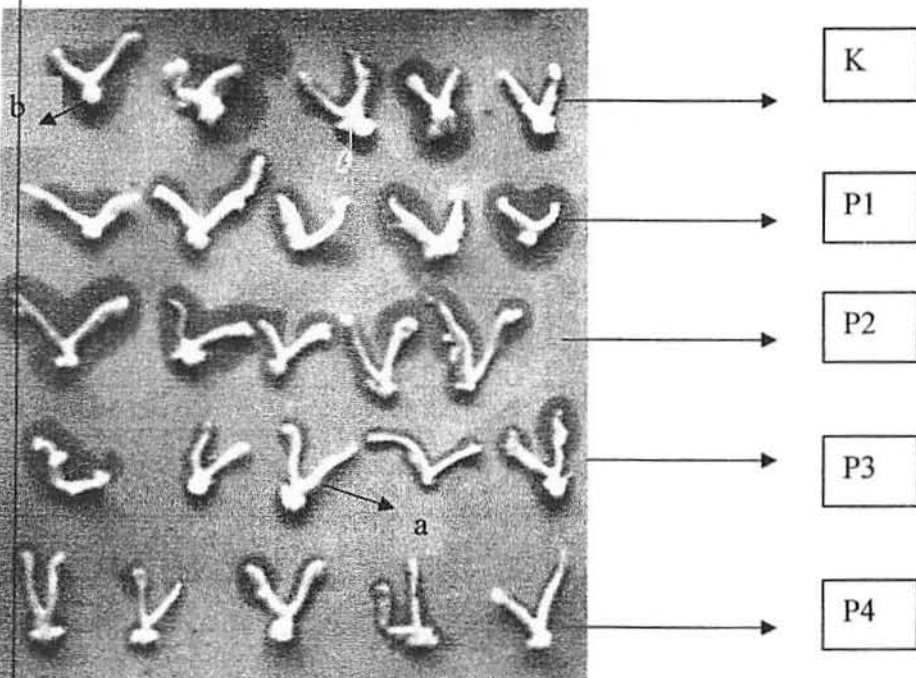


Gambar 5.1.3. Diagram batang rata-rata persentase kelenjar abnormal antar kelompok perlakuan

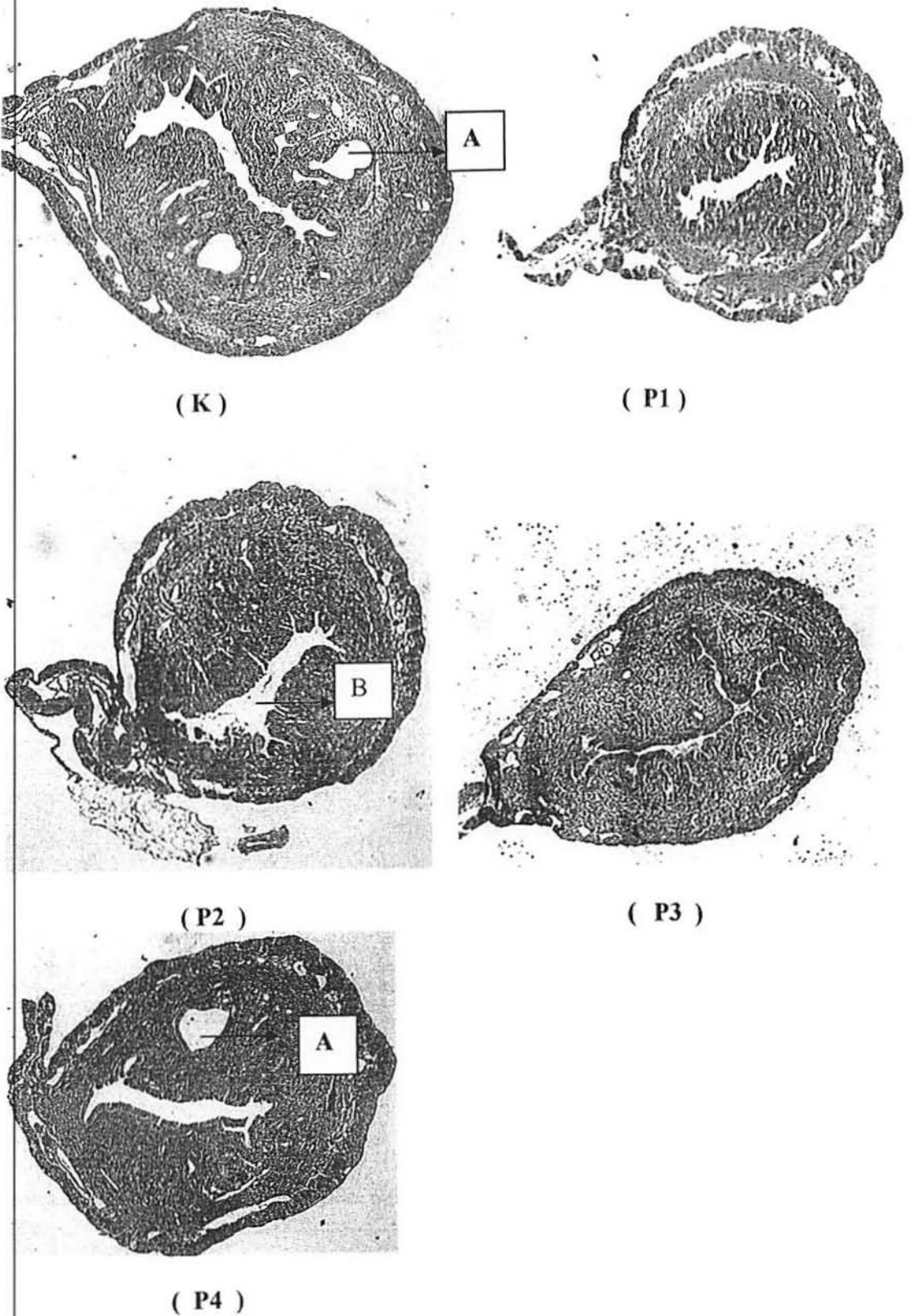
Dari hasil uji ANOVA untuk diameter uterus dan tebal lapisan sel epitel endometrium diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan, dengan signifikansi masing-masing sebesar 0,000 (untuk diameter uterus) dan 0,000 (untuk tebal lapisan epitel endometrium). Dan setelah data diameter uterus dianalisis uji BNT, maka diketahui perlakuan ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 0,75 mg (P2) dan 1 mg (P3) yang menyebabkan pengaruh penghambatan pertumbuhan uterus. Untuk data tebal lapisan epitel endometrium, setelah dianalisis dengan uji BNT, diketahui bahwa semua konsentrasi perlakuan ekstrak daun wungu (P1, P2, P3 dan P4) menyebabkan penghambatan proliferasi sel epitel yang ditunjukkan dengan adanya penurunan tebal lapisan sel epitel pada perlakuan ekstrak daun wungu dibandingkan dengan kontrol. Data tebal lapisan sel epitel kelenjar dan panjang uterus dianalisis dengan uji Robust sehubungan dengan data yang tidak homogen. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada data panjang kornua uterus tidak terdapat perbedaan yang signifikan, sedang pada data tebal lapisan epitel kelenjar terdapat perbedaan signifikan dengan $\alpha = 0,042$. Dan setelah dilanjutkan dengan uji t diketahui bahwa perlakuan dengan semua konsentrasi ekstrak daun wungu (P1, P2, P3 dan P4) menyebabkan penghambatan proliferasi sel dibandingkan dengan kontrol.

Untuk data persentase kelenjar abnormal dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis, dan hasilnya menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (signifikansinya 0,003) ada perlakuan ekstrak daun wungu pada empat macam konsentrasi.

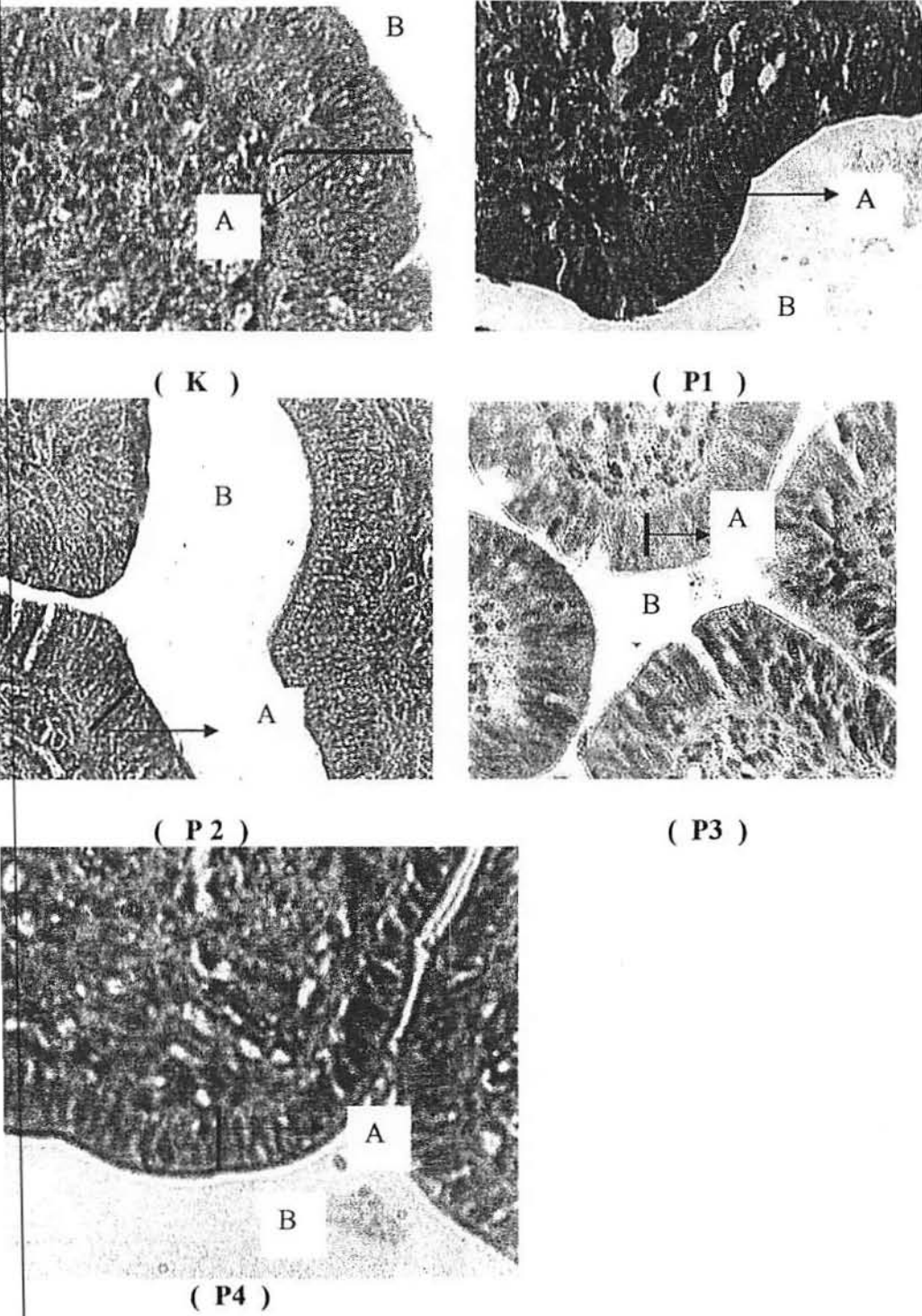
Gambar 5.1.4. menunjukkan adanya penghambatan pada diameter tanduk uterus dan pada panjang tanduk uterus karena perlakuan ekstrak daun wungu. Gambar 5.1.5. adalah gambar irisan melintang uterus, terlihat adanya kelenjar abnormal pada kontrol dan perlakuan dengan daun wungu pada konsentrasi 1,25 mg (P4). Pada gambar 5.1.6. ditunjukkan lapisan epitel pada kontrol (K) lebih tebal dibandingkan pada perlakuan dengan ekstrak daun wungu (P1, P2, P3 dan P4). Dan bentuk-bentuk kelenjar endometrium (kelenjar abnormal dan normal) pada gambar 5.1.7.



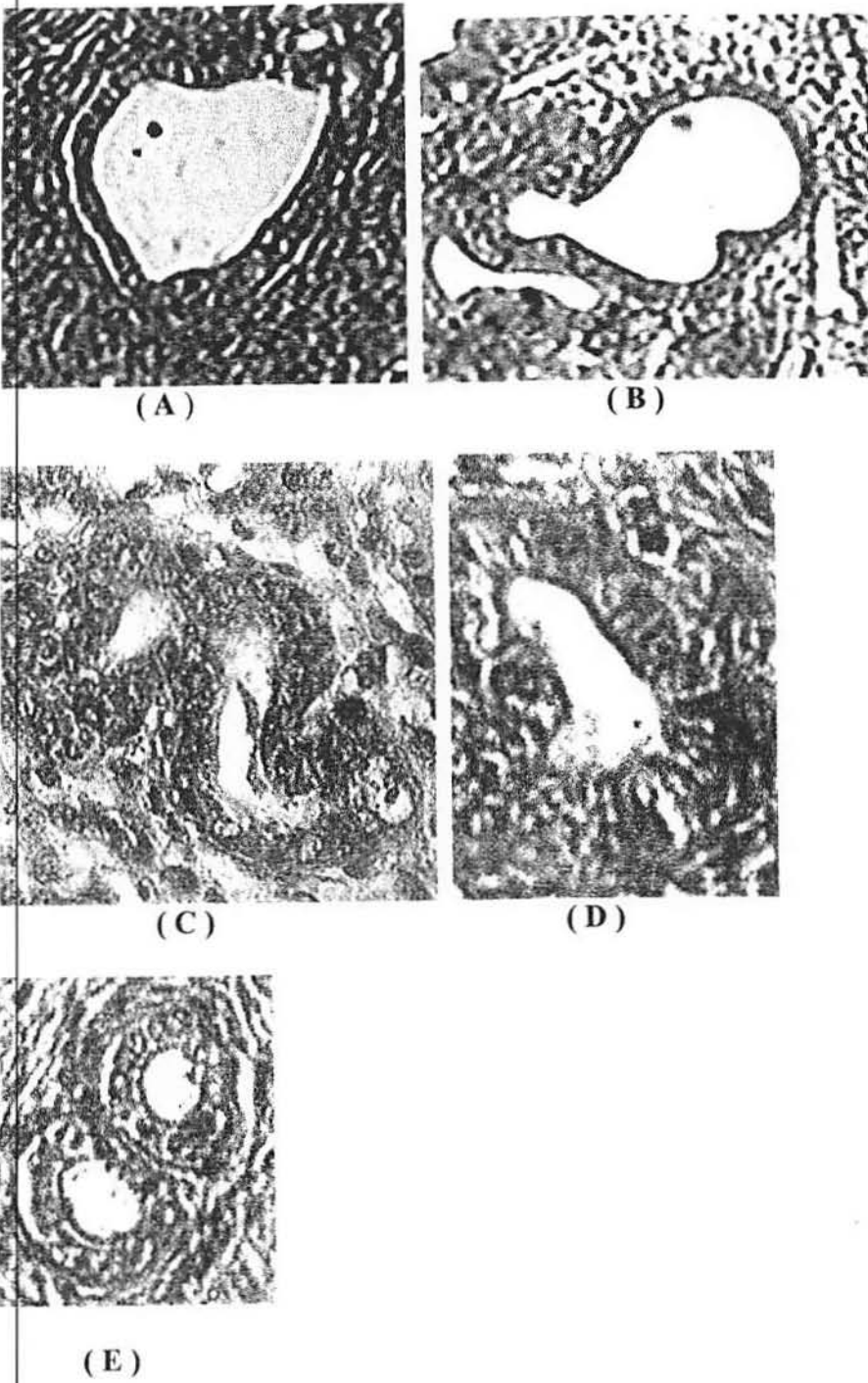
Gambar 5.1.4. Bentuk-bentuk uterus yang masih menyatu dengan vagina pada perlakuan K, P1, P2, P3 dan P4. a. Tanduk uterus. B. vagina



Gambar 5.1.5. Irisan melintang uterus pada perlakuan K, P1, P2, P3 dan P4. A. Kelenjar abnormal, B. lumen uterus.



ambar 5.1.6. Kondisi tebal lapisan epitel endometrium pada perlakuan K, P1, P2, P3 dan P4. A. Tebal lapisan epitel endometrium, B. Lumen



Gambar 5.1.7. Bentuk-bentuk kelenjar endometrium. Kelenjar abnormal (A-D) dan kelenjar normal (E)

2. Pembahasan

Penambahan ethynilestradiol yang terkandung dalam tablet lynoral menyebabkan peningkatan pertumbuhan uterus, hal ini dapat dilihat pada rata-rata diameter uterus pada mencit ovariektomi yang diberi perlakuan *ethynilestradiol* (kontrol) sebesar 14,188 μ m. Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa pada mencit yang telah diovariektomi tanpa perlakuan dengan *ethynilestradiol* rata-rata diameter uterusnya sebesar 6,43 μ m (Suhargo, 2003). Dalam hal ini *ethynilestradiol* dapat menyebabkan peningkatan proliferasi sel-sel pada uterus, khususnya pada endometrium. *Ethynilestradiol* mempunyai struktur kimia yang sangat menyerupai estradiol, sehingga dengan mudah dapat terikat dengan reseptor estrogen. Terikatnya estrogen pada reseptor estrogen menyebabkan reseptor estrogen mengalami dimerisasi dan terikat dengan estrogen response elements (EREs) yang terletak pada promoter gen target dan selanjutnya menginduksi transkripsi gen-gen yang sehubungan dengan proliferasi sel (Bjornstrom dan Sjoberg, 2005).

Bila peningkatan proliferasi sel itu melebihi kondisi normal, maka terjadi kondisi yang dinamakan hiperplasia, hal ini ditunjukkan pada peningkatan tebal lapisan epitel endometrium atau pada kelenjar. Estrogen sebagai penyebab hiperplasia diketahui juga menyebabkan perubahan morfogenesis kelenjar-kelenjar dalam uterus. Jumlah kelenjar yang bentuknya abnormal dan tipe epitel yang abnormal merupakan tanda adanya perkembangan sel kanker. Jika sel epitel dari kelenjar membelah dengan arah parallel terhadap membran dasar dan sepanjang sumbu kelenjar, maka dihasilkan kelenjar yang membesar dan membentuk kista. Jika pembelahan sel tegak lurus dengan membrane dasar, maka dihasilkan kelenjar dengan lapisan epitel yang berlapis, bercabang, membentuk kelenjar anak atau kelenjar konglomerat. Estrogen menyebabkan perubahan morfogenesis kelenjar melalui pengaruhnya pada protein *Wnt* yaitu protein yang mengatur interaksi antar sel dan yang mengatur orientasi mitosis. Jalur signaling *Wnt* diketahui juga terlibat dalam perkembangan morfogenesis uterus selama masa embrio. Aktivitas gen yang mengekspresikan protein *Wnt* berubah selama siklus estrus dan sejalan dengan karsinogenesis pada endometrium (Gunin, *et al.*, 2001).

Karena kondisi hiperplasia pada uterus itu dapat mengarah pada terjadinya kanker, maka diteliti penggunaan bahan-bahan yang dapat menghambat hiperplasia, salah satu bahan tersebut adalah daun wungu. Untuk mengetahui sifat daun wungu sebagai penghambat hiperplasia, maka semua hewan coba diinduksi dengan ethynilestradiol untuk menjadikan kondisi hiperplasia pada hewan-hewan tersebut. Dari hasil percobaan, diketahui bahwa penambahan ekstrak daun wungu diketahui dapat menekan pertumbuhan uterus pada hewan yang diinduksi dengan ethynilestradiol, yang ditunjukkan dengan turunnya diameter uterus, tebal lapisan epitel endometrium dan tebal lapisan epitel kelenjar, serta persentrase kelenjar abnormal.

Ekstrak daun wungu mengandung flavonoid dan fitosterol sangat berperan dalam menghambat proliferasi sel. Flavonoid diketahui mempunyai struktur kimia yang menyerupai estradiol, sehingga flavonoid dapat terikat dengan reseptor estrogen. Flavonoid (yang terkandung dalam ekstrak daun wungu) yang diberikan bersama dengan estradiol berkompetisi untuk mengikat reseptor estrogen. Flavonoid yang terikat dengan reseptor estrogen juga menyebabkan efek estrogenik yaitu proliferasi sel target, tetapi pengaruhnya jauh lebih rendah dibandingkan efek estrogenik dari estradiol. Flavonoid juga menyebabkan penghambatan pada sintesis estrogen oleh jaringan perifer. Untuk sintesis estrogen dibutuhkan enzim aromatase yang bekerja mengkonversi androstenedione menjadi estradiol. Flavonoid dapat menghambat kerja enzim aromatase, sehingga menurunkan sintesis estradiol. Dengan terhambatnya estradiol dari luar tubuh masuk ke dalam sel dan terhambatnya sintesis estradiol di dalam tubuh karena pengaruh flavonoid dari ekstrak daun wungu, maka proliferasi sel pada jaringan-jaringan uterus terhambat.

Daun wungu juga mengandung phytosterol yang tidak terikat dengan reseptor estrogen, jadi dalam hal ini phytosterol tidak berkompetisi dengan estrogen eksogen (ethynilestradiol), tetapi phytosterol dapat mempengaruhi tersedianya estrogen endogen pada mencit ovariektomi. Pada mencit ovariektomi, ovarium sudah tidak ada, jadi estrogen tidak dapat dihasilkan di ovarium, pada kondisi ini, estrogen dihasilkan di jaringan perifer yaitu lemak dan otot. Dan bahan untuk pembentukannya adalah androstenedione yang dihasilkan oleh kelenjar adrenal. Untuk menghasilkan androstenedione diperlukan bahan dasar yaitu kolesterol. Kolesterol ditransfer menuju

mitokondria dari sel kelenjar adrenal, selanjutnya kolesterol dikonversi menjadi pregnenolone. Pregnenolone selanjutnya menuju sitoplasma dan dibentuk menjadi progesterone dan selanjutnya menjadi androstenedione (DeGroot, 1995). Selanjutnya androstenedione menuju endometrium dan dikonversi menjadi estron. Estron dikonversi menjadi estradiol dan menyebabkan peningkatan proliferasi sel. Fitosterol berperan dalam penghambatan penyerapan kolesterol. Fitosterol mempunyai struktur kimia yang menyerupai kolesterol, sehingga fitosterol dapat terikat dengan reseptor kolesterol di usus halus. Dengan adanya fitosterol, maka kolesterol yang dapat terserap usus halus menjadi berkurang (Awad dan Fink, 2000) dan hal ini berarti sintesis estradiol berkurang.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Hasil penelitian ini dapat disusun kesimpulan sebagai berikut :

- 1) Ekstrak etanol daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) dapat menghambat pembentukan hiperplasia pada endometrium menciit betina ovariektomi (yang diinduksi dengan ethynil estradiol). Dan penghambatan hiperplasia pada endometrium ditunjukkan dengan penurunan diameter uterus, tebal lapisan sel epitel endometrium dan kelenjar serta persentase kelenjar abnormal pada perlakuan dengan ekstrak daun wungu dibandingkan dengan kontrol,
- 2) Perlakuan ekstrak etanol daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) dengan konsentrasi 0,75 mg merupakan konsentrasi optimal untuk penurunan hiperplasia pada endometrium menciit betina ovariektomi,

2. Saran

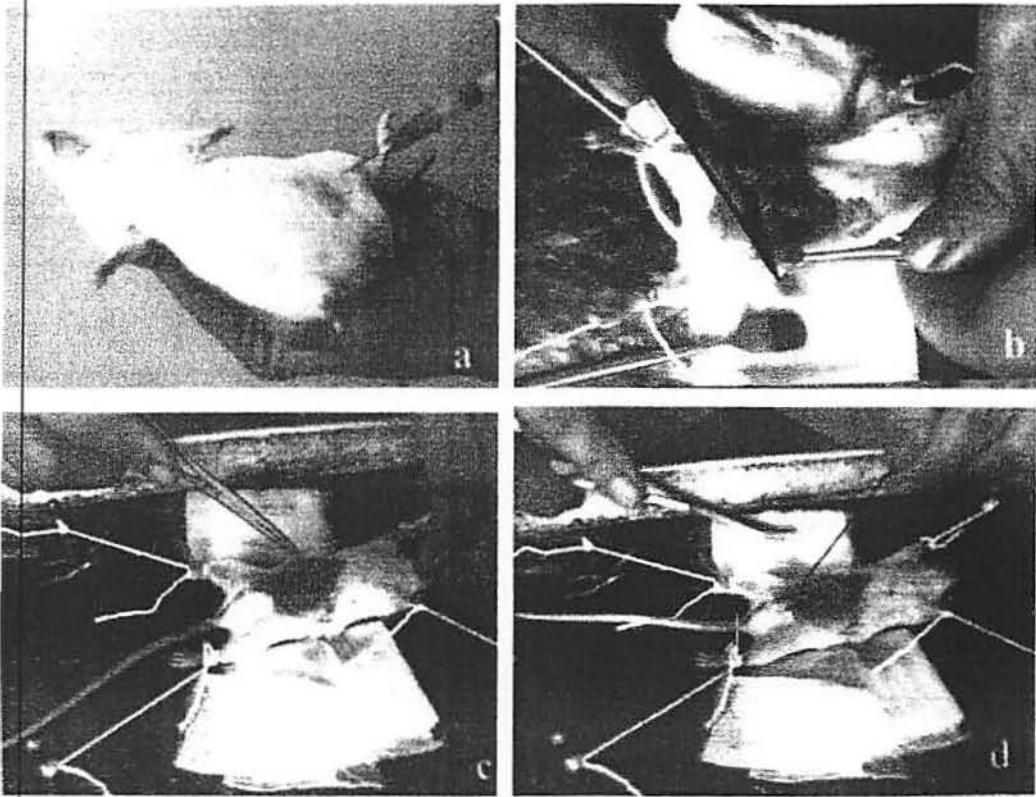
Berdasarkan hasil penelitian ini maka disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme bahan-bahan aktif dari daun wungu untuk penghambatan hyperplasia endometrium dan mengenai efek samping penggunaan daun wungu, sehingga daun wungu diharapkan dapat digunakan untuk terapi pada wanita menopause yang mengalami gangguan proliferasi pada uterus.

DAFTAR PUSTAKA

- Andreen, L., Bixo, M., Nyberg, S., Sundstrom-Poromaa, I., Backstrom, T. 2003. Progesterone Effects during Sequential Hormone Replacement Therapy. *European Journal of Endocrinology*. 148 : 571-577.
- Awad, A.B. dan Fink, S.S. 2000. Phytosterol as Anticancer Dietary Components: Evidence and Mechanism of Action. *Recent Advances in Nutritional Sciences. The Journal of Nutrition. American Society for Nutritional Sciences*. 0022-3166.
- Arifatin, 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.
- Bjornstrom, 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.
- Baziad, Ali. 2003. *Menopause dan Andropause*. Penerbit Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. Jakarta. P. 7-38.
- Brueggemeier, R.W., Hackett, J.C. dan Dian-Cruz, E.S. 2005. Aromatase Inhibitor in the Treatment of Breast Cancer. *Endocrine Reviews*. 26 (3) : 331-345.
- Burow, 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.
- DeGroot, L.J. 1995. *Endocrinology*. Vol. 3. 3rd Ed. W.B. Saunders Company. P. 2128-2136.
- Gunin, A.G., Mashin, I.N. dan Zakharov, D.A. 2001. Proliferation, Mitosis Orientation and Morphogenetic Changes in The Uterus of Mice Following Chronic Treatment with Both Estrogen and Glucocorticoid Hormones. *Journal of Endocrinology*. 169 : 23-31.
- Gunin, A.G., Kapitova, I.N., dan Susionova, N.V. 2005. Effects of Histone Deacetylase Inhibitors on Estradiol-Induced Proliferation and Hyperplasia Formation in The Mouse Uterus. *Journal of Endocrinology*. 185DOI: 10. 1677/joe.1.06118.
- Fernandez, C., Suarez, Y., Ferruelo, A.J., Coronado, D.G. dan Lansuncion, M.A. 2002. Inhibition of Cholesterol Biosynthesis by 22-Unsaturated Phytosterol via Competitive Inhibition of Sterol 24- Reduktase in Mammalian Cells. *Biochem. J* . 366 (109-119).
- Hafez B. dan Hafez, E.S.E. 2000. *Reproduction in Farm Animals*. 7th. Ed. Lippincott Williams & Wilkins. USA.
- Hafez, E.S.E. 1970. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. Lea & Febiger. Philadelphia.

- akim, 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.
- rawati, 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..
1. Y.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.
- necht, C.D. 1987. *Fundamental Techniques in Veterinary Surgery*. 3rd. Es. W.B. Saunders Company. Phyledelphia.
- usumawati, I. Dyatmiko, W., Santoso, M.H., dan Maat, S. 2002. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Graptophyllum Pictum (L) Griff. Terhadap Fungsi Fagositosis Serta Pembentukan Imunoglobulin M dan Tnf- α Pada Mencit. *Majalah Farmasi Airlangga*. II (2) : 76..
- iddleton, 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.
- artodihardjo, S. 1982. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Penerbit Mutiara. Jakarta.
- unkawa, U. 1999. *Comprehensive Natural Products Chemistry*. Elsevier. Amsterdam. p. 714-715.
- etiyono, B. dan Wahyudi. 1993. Pemeriksaan Kandungan Kimia daun Handeuleum {*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.} *Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III*. Fakultas Farmasi. UGM. Yogyakarta. 434-440.
- ilalahi, J. 2002. *Fitosterol dalam Margarine : Cara Efektif Menurunkan Kolesterol*. Laboratorium Kimia Bahan Makanan. Jurusan Farmasi. Fakultas MIPA. Universitas Sumatera Utara. Medan
- anderson, J.T., Hordijk, J, Denison, M.S., Springsteel, M.F., Nants, M.H. dan Berg, M.v.d. 2004. Induction and Inhibition of Aromatase (CYP19) Activity by Natural and Synthetic Flavonoid Compounds in H295R Human Adrenocortical Carcinoma Cells. *Toxicological Sciences*. 82 : 70-79.
- uhargo, Listijani. 2003. *Kajian Histologi Aktivitas Estrogenik Ekstrak Daun Handeuleum {Graptophyllum pictum (L.) Griff} Pada Saluran Reproduksi Mencit Betina. Terovariectomi*. Lembaga Penelitian UNAIR.
- homas, A.N.S. 1992. *Tanaman Obat Tradisional 2*. Kasinus. Yogyakarta.
- Wijayakusuma, H., Dalimartha, S., Wirian, A.S. 1993. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Cetakan keempat. Penerbit Pustaka Kartini. Jakarta.
- en, S.S.C. dan Jaffe, R.B. 1991. *Reproductive Endocrinology*. W.B. Saunders Company. Philadelphia. P. 309-350.

Lampiran 1. Prosedur ovariektomi pada mencit



Keterangan :

- a. Pembedahan dengan larutan ketalar
- b. Pembedahan dan pengambilan ovarium kiri dan kanan
- c. Penjahitan irisan peritoneum dan otot dengan menggunakan benang catgut
- d. Penjahitan irisan kulit dengan menggunakan benang silk

piran 2

uji statistik data-data diameter uterus, panjang tanduk uterus, tebal lapisan sel lumen uterus, tebal lapisan sel epitel kelenjar, jumlah kelenjar, dan prosentase kelenjar normal dalam endometrium.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter uterus	panjang uterus	tebal lap. sel lumen	tebal lap. sel kelenjar
Normal Parameters(a,b)		Mean	30	30	30
		Std. Deviation	12.03583	1.2673	.42917
Most Extreme Differences		Absolute	2.606554	.20276	.171465
		Positive	.094	.111	.191
		Negative	.059	.092	.191
Kolmogorov-Smirnov Z			-.094	-.111	-.117
Asymp. Sig. (2-tailed)			.516	.607	1.044
			.953	.855	.226

Normal distribution is Normal.
 Calculated from data.

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
diameter uterus	K	6	14.18750	2.053579	.838370	12.03240	16.34260	11.500	17.250
	P1	6	13.35417	1.619060	.660978	11.65507	15.05327	11.125	15.125
	P2	6	8.89583	1.720132	.702241	7.09067	10.70100	6.375	10.375
	P3	6	10.89583	2.075778	.847433	8.71744	13.07423	7.000	12.375
	P4	6	12.84583	1.865504	.761589	10.88811	14.80356	9.750	15.125
	Total	30	12.03583	2.606554	.475889	11.06253	13.00914	6.375	17.250
tebal lap. sel lumen	K	6	.68250	.158706	.064791	.49595	.82905	.450	.900
	P1	6	.37083	.101755	.041541	.26405	.47762	.250	.500
	P2	6	.29167	.040825	.016667	.24882	.33451	.225	.375
	P3	6	.45833	.112546	.045947	.34022	.57644	.300	.600
	P4	6	.36250	.148955	.060810	.20618	.51882	.250	.475
	Total	30	.42917	.171465	.031305	.36514	.49319	.225	.600

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
diameter uterus	.102	4	25	.981
tebal lap. sel lumen	2.545	4	25	.065

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
diameter uterus	Between Groups	109.098	4	27.274	7.754	.000
	Within Groups	87.932	25	3.517		
	Total	197.030	29			
tebal lap. sel lumen	Between Groups	.492	4	.123	8.539	.000
	Within Groups	.360	25	.014		
	Total	.853	29			

diameter uterus

Duncan

kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
P2	6	8.89583		
P3	6	10.89583	10.89583	
P4	6		12.84583	12.84583
P1	6			13.35417
K	6			14.18750
Sig.		.077	.084	.253

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

tebal lap. sel lumen

Duncan

kelompok perlakuan	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
P2	6	.29167		
P4	6	.36250	.36250	
P1	6	.37083	.37083	
P3	6		.45833	
K	6			.66250
Sig.		.291	.203	1.000

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

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
					Lower Bound	Upper Bound			
panjang uterus	K	6	1.4050	.23072	.09419	1.1629	1.6471	1.11	1.7
	P1	6	1.1983	.30222	.12338	.8812	1.5155	.81	1.4
	P2	6	1.2633	.09331	.03609	1.1654	1.3613	1.10	1.3
	P3	6	1.1783	.17011	.06945	.9998	1.3569	.97	1.4
	P4	6	1.2917	.13243	.05406	1.1527	1.4306	1.13	1.4
	Total	30	1.2673	.20276	.03702	1.1916	1.3430	.81	1.7
tebal lap. sel kelenjar	K	6	.20433	.100506	.041031	.06886	.30981	.092	.31
	P1	6	.10150	.020579	.008401	.07990	.12310	.067	.12
	P2	6	.10267	.040262	.016445	.06039	.14494	.075	.18
	P3	6	.15267	.060189	.024572	.08950	.21583	.100	.23
	P4	6	.16667	.023407	.009556	.14210	.19123	.142	.20
	Total	30	.14557	.066431	.012129	.12076	.17037	.067	.31

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
panjang uterus	3.684	4	25	.017
tebal lap. sel kelenjar	10.850	4	25	.000

Robust Tests of Equality of Means

		Statistic ^a	df1	df2	Sig.
panjang uterus	Brown-Forsythe	1.211	4	16.093	.345
tebal lap. sel kelenjar	Brown-Forsythe	3.553	4	11.257	.042

a. Asymptotically F distributed.

Hasil Uji t antar kelompok perlakuan pada tebal lapisan sel epitel kelenjar

Kelompok perlakuan	Signifikansi
K-P1	0.000
K-P2	0.005
K-P3	0.042
K-P4	0.000
P1-P2	0.368
P1-P3	0.007
P1-P4	0.531
P2-P3	0.129
P2-P4	0.548
P3-P4	0.011

Persentase kelenjar abnormal**Report**

kelenjar

Perlakuan	Mean	N	Std. Deviation
K	86.4117	6	8.31103
P1	12.6233	6	9.55765
P2	15.1833	6	10.83474
P3	16.1917	6	11.45050
P4	19.6367	6	6.67213
Total	30.0093	30	30.10223

Kruskal-Wallis Test

Ranks

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
kelenjar	K	6	27.50
	P1	6	9.67
	P2	6	11.42
	P3	6	12.58
	P4	6	16.33
	Total	30	

Test Statistics^{a,b}

	kelenjar
Chi-Square	15.790
df	4
Asymp. Sig.	.003

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Hasil Test Mann Whitney

Kelompok perlakuan	Signifikansi
K-P1	0,004
K-P2	0,004
K-P3	0,004
K-P4	0,004
P1-P2	0,631
P1-P3	0,522
P1-P4	0,109
P2-P3	0,936
P2-P4	0,150

