

**PENGARUH EKSTRAK KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris L*)
TERHADAP PERKEMBANGAN FOLIKEL TELUR MENCIT (*Mus musculus*)
GALUR BALB/C**



SKRIPSI

Oleh

MIFTAHUL HASANAH

E1A014028

**Diajukan untuk Memenuhi Persyaratan dalam
Menyelesaikan Program Sarjana (S1) Pendidikan Biologi**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS MATARAM**

2019



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS MATARAM
 FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
 Jln. Majapahit 62 Mataram NTB, 83125 Telp.(0370) 623873 fax.(0370) 634918

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

- a. Nama Lengkap : Miftahul Hasanah
- b. Jenis Kelamin : Perempuan
- c. NIM : E1A014028
- d. Program Studi : Pendidikan Biologi
- e. Jurusan : PMIPA
- f. Telepon/HP : 081805615296
- g. Alamat Rumah : Jln. H.L. Hasyim, Bonter, Desa Bunut Baik, Praya.

dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya dengan judul “Pengaruh Ekstrak Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) terhadap Perkembangan Folikel Telur Mencit (*Mus musculus*) Galur Balb/c” ini memang benar karya saya dan bukan jiplakan dari karya orang lain. Bilamana di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Mataram, Juli 2019

Mengetahui:
 Ketua Program Studi,

Mahasiswa ybs,

(Dr. Gito Hadiprayitno, M. Si.)
 NIP. 19710408 199803 1 002



(Miftahul Hasanah)
 E1A014028



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS MATARAM
 FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
 Jln. Majapahit 62 Mataram NTB, 83125 Telp. (0370) 623873 fax. (0370) 634918

PERSETUJUAN SKRIPSI

Skrripsi berjudul : "Pengaruh Ekstrak Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* terhadap Perkembangan Folikel Telur Mencit (*Mus musculus*) Galur Balb/c"

Yang disusun oleh :

Nama : Miftahul Hasanah
 NIM : E1A014028
 Prog. Studi : Pendidikan Biologi

telah disetujui tanggal : Juli 2019

Mataram, Juli 2019

Dosen Pembimbing I,

Dosen Pembimbing II,

(Dr. Svamsul Bahri, M.Si.)
 NIP:19631231 199603 1 002

(Drs. I Wayan Merta, M.Si.)
 NIP: 19631231 199001 1 002

Mengetahui,
 Ketua Jurusan Pendidikan MIPA,

Menyetujui,
 Ketua Program Studi Pendidikan Biologi,

(Dr. Drs. Karlan, M.Si.)
 NIP. 19621231 199001 1 002

(Dr. Gito Hadiprayitno, M. Si.)
 NIP. 19710408 199803 1 002



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS MATARAM
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
Jln. Majapahit 62 Mataram NTB, 83125 Telp.(0370) 623873 fax.(0370) 634918

PENGESAHAN SKRIPSI

Skrripsi berjudul: **“Pengaruh Ekstrak Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Terhadap Perkembangan Polikel Telur Mencit (*Mus musculus*) Galur Balb/c”**

Yang disusun oleh:

Nama : Miftahul Hasanah

NIM : E1A014028

Program Studi : Pendidikan Biologi

telah diuji pada tanggal : Mei 2019

dan disetujui pada tanggal : Juli 2019

DEWAN PENGUJI

Ketua,

(Dr. Svamsul Bahri, M.Si.)
NIP: 19631231 199603 1 002

Anggota I,

Anggota II,

(Dr. I Wayan Merta, M.Si.)
NIP: 19631231 199001 1 002

(Dr. Imam Bachtiar, M.Sc.)
NIP. 19630217 198810 1 001

Mengesahkan:

FKIP Mataram

(Prof. Dr. H. A. Wahab Jufri, M.Sc.)
NIP: 19631231 198703 1 001

MOTTO :

Berangkat dengan penuh keyakinan

Berjalan dengan penuh keikhlasan

Istiqomah dalam menghadapi cobaan

“ YAKIN, IKHLAS, ISTIQOMAH “

(TGKH. Muhammad Zainuddin Abdul Madjid)

Jika sore tiba, janganlah tunggu waktu pagi, jika pagi tiba, janganlah tunggu waktu sore. Manfaatkan masa sehatmu sebelum tiba masa sakitmu dan manfaatkan masa hidupmu sebelum tiba ajalmu
(Umar bin Khattab)

Jadikanlah sabar dan shalat sebagai penolongmu
Dan sesungguhnya yang demikian itu sungguh berat,
kecuali bagi orang-orang yang khusyu'
(QS. Al-Baqarah/2: 45)

Persembahan :

Alhamdulillah Robbil'alamin, segala puji dan syukur bagi Allah SWT penguasa seluruh alam yang selalu memberikan karunia dan kebaikan sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Karya ini ku persembahkan untuk:

- ❖ Bapak dan Ibu tersayang yang telah membimbing, mendukungku dan mencurahkan segalanya untuk membahagiakanku. Terima kasih atas do'a dan segala kesabaran serta ketulusan tetes kringat yang telah kalian berikan padaku.
- ❖ Nenek, paman, serta hibikku tercinta yang tak bosan-bosanya memberikan wejengan untuk hidupku yang lebih bermanfaat

- ❖ Teman- teman kelas Biologi angkatan 2014 yang tidak bisa saya sebutkan satu per satu, terima kasih atas kebersamaan selama masa kuliah.
- ❖ Semua orang yang telah memberikan doa, dorongan serta bantuan sehingga studi saya ini bisa selesai.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha penyayang, karena dengan rahmat dan ridho-Nya penulisan Skripsi yang berjudul “**Pengaruh Ekstrak Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris*, L) terhadap Perkembangan Folikel Telur Mencit (*Mus musculus*) Galur Balb/c**” dapat terselesaikan. Tidak lupa pula shalawat dan salam ke junjungan alam Nabi Besar Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabat beliau yang telah berjuang membawa manusia dari Zaman Jahiliyah ke zaman ilmu pengetahuan yang bermanfaat. Semoga kita mendapat safaat beliau diakhirat kelak amin.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pembimbing I Bapak Dr. Syamsul Bahri, M.Si dan pembimbing II Bapak Drs. I Wayan Merta, M.Si yang dengan tekun dan ikhlas meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membantu penulis dalam menyusun setiap kata dan isi dalam skripsi ini sehingga menjadi bacaan ilmiah yang layak. Selain itu, saya juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof.,Dr. H. Wahab Jufri, M.Sc., selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan (FKIP) Universitas Mataram.
2. Dr. Karnan, M.Si., selaku ketua Jurusan Pendidikan MIPA FKIP Universitas Mataram.
3. Dr. Gito Hadiprayitno, S.Pd., M.Si., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Mataram.

4. Dr. Imam Bachtiar, M.Sc, selaku dosen penguji.
5. Seluruh dosen dan staf akademik program studi pendidikan biologi FKIP Universitas Mataram. Terima Kasih atas bimbingan Ibu dan Bapak Dosen.
6. Endang Lasminawati, Ezha Vandia Sulawanti, Nopiana Mashuri, dan seluruh teman-teman seperjuangan program studi Pendidikan Biologi 2014 yang telah ikut membantu dalam proses penelitian dan selalu memberikan semangat.
7. Adik-adik tingkat Program Studi Pendidikan Biologi yang telah membantu dalam melakukan penelitian skripsi ini.
8. Semua orang yang telah banyak membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Kritik dan saran yang konstruktif untuk menyempurnakan penulisan skripsi ini sangat penulis harapkan. Atas kritik dan saran yang diberikan, penulis ucapkan terima kasih.

Akhir kata semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan karunianya kepada kita semua dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di FKIP khususnya dan masyarakat pada umumnya.

Mataram, Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat.....	4
1.5 Batasan Masalah.....	5
1.6 Definisi Operasional.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Kacang Merah.....	8
2.1.1 Karakteristik Kacang Merah.....	8
2.1.2 Jenis Kacang Merah.....	9
2.1.3 Klasifikasi Kacang Merah.....	10
2.1.4 Kandungan Gizi Kacang Merah.....	10
2.1.5 Kandungan Fitoestrogen Kacang Merah.....	12
2.2 Fitoestrogen.....	18
2.2.1 Senyawa Isoflavon pada Fitoestrogen.....	19
2.2.2 Bioaktivitas Isoflavon.....	21
2.2.3 Senyawa Isoflavon untuk Kesehatan.....	22
2.3 Mencit.....	26
2.3.1 Karakteristik Mencit.....	26
2.3.2 Kebutuhan dan Konversi Pakan.....	28
2.3.3 Bobot Badan dan Laju Pertumbuhan.....	29

2.3.4 Sifat-sifat Reproduksi Mencit.....	30
2.4 Estrogen.....	32
2.4.1 Estrogen dalam Perkembangan Uterus.....	35
2.4.2 Peran Estrogen terhadap Profil Lipid Darah.....	37
2.5 Kerangka berfikir.....	39
2.6 Hipotesis.....	41
BAB III METODE PENELITIAN.....	42
3.1 Jenis Penelitian.....	42
3.2 Variabel Penelitian.....	42
3.2.1 Variabel Bebas.....	42
3.2.2 Variabel Terikat.....	43
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian.....	43
3.4 Populasi dan Sampel.....	43
3.4.1 Populasi.....	43
3.4.2 Sampel.....	43
3.5 Alat dan Bahan.....	44
3.6.1 Alat.....	44
3.6.2 Bahan.....	44
3.6 Cara Kerja.....	45
3.7.1 Tahap Persiapan.....	45
3.7.2 Pembuatan Ekstrak Kacang Merah.....	45
3.7.3 Aklimatisasi.....	46
3.7.4 Tahap Pelaksanaan.....	46
3.7 Desain atau Rancangan Penelitian.....	51
3.8 Teknik Analisis Data.....	55
BAB IV HASIL PENELITIAN.....	56
BAB V PEMBAHASAN.....	64
BAB VI PENUTUP.....	70
6.1 Kesimpulan.....	70
6.2 Saran.....	70
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Komposisi zat gizi kacang merah per100 gram	11
Table 2.2 Komposisi asam amino dalam kacang merah	11
Tabel 2.3. Komposisi senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak kacang merah.....	12
Tabel 2.4. Sifat biologis mencit (Mus musculus).....	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Gambar Kacang Merah	8
Gambar 2.2. Persamaan struktur antara fitoestrogen dan estradiol	14
Gambar 2.3. Mekanisme kerja fitoestrogen.....	17
Gambar 2.4. Mencit (<i>Mus musculus</i>).....	26
Gambar 2.5. Struktur kimia hormon estrogen 17 -estradiol	33
Gambar 2.6. Struktur anatomi uterus tikus dan manusia.....	35
Gambar 2.7. Kerangka berfikir	40
Gambar 3.1. Skema rancangan penelitian	54
Gambar 4.1. Preparat histologis ovarium mencit perbesaran 40 X 60.	57
Gambar 4.2 Rata-rata jumlah folikel telur hewan uji yang diberi perlakuan selama 15 hari	58
Gambar 4.3. Rata-rata jumlah folikel telur hewan uji yang diberi perlakuan selama 30 hari	59
Gambar 4.4. Komposisi folikel ovarium mencit (<i>Mus musculus</i>) per satuan lapang pandang	60
Gambar 4.5. Pengaruh ekstrak kacang merah terhadap folikel tahap akhir	62
Gambar 4.6. Perbedaan pengaruh dosis dan lama perlakuan ekstrak kacang merah terhadap perkembangan folikel tahap akhir.	63

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I Hasil analisis sidik ragam folikel primordial	76
Lampiran II Hasil analisis sidik ragam folikel primer	78
Lampiran III Hasil analisis sidik ragam folikel sekunder	80
Lampiran IV Hasil analisis sidik ragam folikel tertier	82
Lampiran V Hasil analisis sidik ragam folikel de Graaf	84
Lampiran VI Hasil analisis sidik ragam korpus luteum	86
Lampiran VII Hasil analisis sidik ragam folikel tahap akhir	88
Lampiran VIII Hasil uji DMRT folikel tahap akhir	90
Lampiran IX Gambar alat dan bahan	91
Lampiran X Gambar preparat histologis	93

**PENGARUH EKSTRAK KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris L*)
TERHADAP PERKEMBANGAN FOLIKEL TELUR MENCIT BETINA
(*Mus musculus*) GALUR BALB/C**

Oleh:

**MIFTAHUL HASANAH
E1A014028**

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris L*) terhadap perkembangan folikel telur mencit (*Mus musculus*) galur balb/c. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri atas 4 kelompok perlakuan. Setiap kelompok perlakuan menggunakan 5 ekor mencit betina umur 2 bulan dengan berat 18 – 22 gram. Parameter penelitian berupa jumlah folikel telur pada berbagai tahap perkembangan yang diamati dari sayatan histologis ovarium. Data yang diperoleh dianalisis dengan Analisis Varians Dua Jalur dan Uji DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak kacang merah berpengaruh nyata terhadap perkembangan folikel telur mencit galur balb/c.

Kata kunci: Ekstrak kacang merah, Fitoestrogen, Folikel primordial, folikel primer, folikel sekunder, folikel tertier, folikel de Graaf, korpus luteum.

**THE EFFECT OF RED BEAN (*Phaseolus vulgaris*, L) EXTRACT ON
THE DEVELOPMENT OF EGG FOLLICLE IN MICE (*Mus
musculus*) BALB/C**

BY:

**MIFTAHUL HASANAH
E1A014028**

ABSTRACT

Research has been conducted on the effect of red bean extract (*Phaseolus vulgaris* L) on the development of mouse follicles (*Mus musculus*) balb/c strains. This study used a completely randomized design consisting of 4 treatment groups. Each treatment group used 5 female mice aged 2 months weighing 18-22 grams. The research parameters were the number of egg follicles at various stages of development which were observed from the histological incision of the ovaum. The data obtained were analyzed by Two Way Variance Analysis and DMRT Test. The results showed that the treatment of red bean extract had a significant effect on the development of egg follicles in mice with balb/c strains.

Keywords: Red bean extract, phytoestrogens, primordial follicles, primary follicles, secondary follicles, tertiary follicles, de Graaf follicles, corpus luteum.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Alat reproduksi mammalia betina terdiri dari alat kelamin primer dan alat kelamin sekunder. Alat kelamin primer berupa sepasang ovarium. Badan ovarium terdiri dari dua daerah yaitu korteks dan medula. Pada bayi perempuan stroma korteks mengandung sekitar dua juta sel telur ketika baru lahir, menjelang baligh jumlahnya menyusut menjadi tiga ratus ribu sel telur (Gilbert, 2000).

Pematangan sel telur diatur oleh hormon yang disekresikan oleh hipofisis bagian anterior seperti FSH dan LH. FSH berfungsi memicu perkembangan folikel ovarium. Estrogen yang dibentuk oleh folikel telur dapat merangsang pertumbuhan dinding endometrium uterus, menghambat sekresi FSH, dan merangsang sekresi LH (Luteinizing Hormon). Lonjakan LH menyebabkan terjadinya ovulasi (Ganong, 2014). Bila sel telur tidak dibuahi, produksi estrogen akan terhenti. Hal ini menyebabkan kadar estrogen darah rendah, sehingga produksi LH juga turun.

Peningkatan kadar FSH menyebabkan sel-sel granulosa yang membungkus sel telur berproliferasi sehingga jumlah lapisan sel granulosa bertambah. FSH juga merangsang sel-sel granulosa mensintesis dan mensekresikan estrogen. Estrogen manusia merangsang pertumbuhan sel telur sehingga sel telur matang dan siap untuk ovulasi.

Proses pematangan sel telur ini berlangsung secara bersiklus selama fase reproduksi. Menjelang menopause, siklus tersebut mulai tidak teratur akibat terjadinya perubahan hormonal, seperti berkurangnya produksi estrogen yang dapat menyebabkan memendeknya fase folikular. Fenomena ini dikenal sebagai klimakterium. Hilangnya fungsi ovarium secara bertahap akan menurunkan kemampuannya dalam merespon rangsangan hipofisis dalam mensintesis hormon steroid (Belardin dkk., 2014).

Beberapa bahan non-steroid dan senyawa yang terdapat dalam tumbuhan memiliki aktivitas estrogenik. Fitoestrogen merupakan senyawa dari tumbuhan yang strukturnya mirip dengan struktur estrogen sehingga dapat menunjukkan sifat agonis pada *Estrogen Receptor* (ER). Kemampuan fitoestrogen meniru efek estrogen didasarkan oleh keberadaan senyawa dengan berat molekul setara dengan berat molekul estrogen (272 g/mol), cincin fenolik sebagai *binding site* dan memiliki inti dengan dua gugus hidroksil dengan jarak 11,0-11,5Å (Whitten dan Patisaul, 2001). Menurut Biben (2012) fitoestrogen adalah senyawa yang terkandung dalam kelompok tumbuhan, baik biji-bijian, kacang-kacangan, sayur-sayuran, dan buah-buahan. Senyawa fitoestrogen yang terkandung di dalam tumbuhan antara lain flavonoid, coumestan, lignan, dan stilben. Salah satu jenis tumbuhan yang mengandung fitoestrogen adalah kacang merah.

Menurut Whitten dan Patisaul (2001) fitoestrogen dapat mempengaruhi siklus ovarium seperti pertumbuhan dan perkembangan folikel telur. Meskipun demikian penggunaan fitoestrogen dalam dunia kesehatan menurut Biben (2012) dan Irianto (2014) masih menimbulkan banyak pro dan kontra. Oleh karena itu

penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kacang merah yang diduga mengandung fitoestrogen terhadap pertumbuhan dan perkembangan folikel telur dengan menggunakan mencit sebagai hewan percobaan .

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

- 1) Apakah ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) berpengaruh pada perkembangan folikel telur (primordial, primer, sekunder, tertier, de Graaf, dan korpus luteum) mencit (*Mus musculus*)?
- 2) Dosis ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) berapakah yang mempengaruhi perkembangan folikel telur mencit (*Mus musculus*) secara signifikan?
- 3) Apakah lama pemberian ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris, L*) mempengaruhi perkembangan folikel telur mencit (*Mus musculus*) secara signifikan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah:

- 1) Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) terhadap perkembangan folikel telur (primordial, primer, sekunder, tertier, de Graaf, dan korpus luteum) mencit (*Mus musculus*).

- 2) Untuk mengetahui pengaruh dosis ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) terhadap perkembangan folikel telur (primordial, primer, sekunder, tertier, de Graaf, dan korpus luteum) mencit (*Mus musculus*).
- 3) Untuk mengetahui pengaruh lama pemberian ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) terhadap perkembangan folikel telur (primordial, primer, sekunder, tertier, de Graaf, dan korpus luteum) mencit (*Mus musculus*).

1.4 Manfaat

Adapun manfaat yang didapatkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Masyarakat

Hasil penelitian ini dapat menjadi informasi bagi masyarakat berdasarkan bukti ilmiah bahwa manfaat kacang merah dapat mempengaruhi perkembangan folikel sel telur.

- 2) Mahasiswa

Dapat menambah wawasan pengetahuan tentang pemanfaatan bahan-bahan herbal yang ada di sekitar khususnya kacang merah

- 3) Peneliti Lain

Hasil penelitian ini dapat menjadi informasi ilmiah tambahan terkait manfaat kacang merah (*Phaseolus vulgaris L*) serta dijadikan referensi untuk melakukan penelitian yang sama.

1.5 Batasan Masalah

Agar penelitian ini lebih terarah, maka jangkauan dari lingkup penelitian ini perlu ditegaskan. Sesuai dengan judul yang penulis angkat, maka batasan masalah pada penelitian ini adalah :

- 1) Penelitian ini menggunakan satu kelompok hewan kontrol dan tiga kelompok hewan perlakuan.
- 2) Pemberian Ekstrak kacang merah pada penelitian ini dibatasi pada dosis-dosis tertentu yaitu 37mg/kg bb., 50mg, /kg bb., dan 75mg/kg bb.
- 3) Ekstrak kacang merah pada penelitian ini diberikan secara oral selama 15 hari atau 30 hari berturut-turut.
- 4) Penelitian ini hanya mengamati efek ekstrak kacang merah terhadap perkembangan folikel telur mencit (primordial, primer, sekunder, tertier, de Graf, dan korpus luteum).

1.6 Definisi Istilah

Untuk menghindari pemahaman yang salah dalam menafsirkan istilah-istilah yang digunakan dalam penelitian, berikut dijelaskan beberapa istilah penting dan bahasannya.

- 1) Kacang merah

Kacang merah merupakan tanaman semusim yang berbentuk perdu. Buahnya (polongnya) pendek, sekitar 12 cm, lurus atau bengkok dan warnanya bermacam-macam. Kacang merah sangat digemari oleh masyarakat, karena rasanya enak dan gurih, juga merupakan sumber protein nabati penting

dan banyak mengandung vitamin A, vitamin B, dan vitamin C, terutama pada bagian bijinya (Sunaryo dan Rismunandar, 1984).

2) Estrogen

Estrogen merupakan salah satu hormon seks yang berperan penting terutama bagi wanita. Estrogen berperan dalam pertumbuhan sel, diferensiasi, dan fungsi organ spesifik (O'lonc dkk., 2004). Pada organ kelamin, estrogen mengatur siklus menstruasi dan siklus reproduksi, menstimulasi proliferasi sel-sel epitel uterus, jaringan duktus dan kelenjar pada payudara (Irianto, 2014). Selain itu estrogen menurunkan reabsorpsi tulang dan meningkatkan densitas tulang, mempengaruhi metabolisme lipid dengan meningkatkan sintesis *High Density Lipoprotein* (HDL) dan menurunkan *Low Density Lipoprotein* (LDL). Estrogen juga menstimulasi produksi *Sex Hormon-Binding Globulin* (SHBG) di hati (Ruggiero dan Likis, 2002).

3) Fitoestrogen

Fitoestrogen merupakan senyawa alami yang berasal dari tumbuhan. Struktur kimianya dan fungsinya mirip dengan hormon 17 β -estradiol, mengandung komponen defenolik yang berubah menjadi bahan estrogenik dalam saluran cerna. Dikenal 2 klasifikasi biokimia yaitu lignans (enterolacton, enterodiol) dan isoflavon (genistein, daizein, biochanin-A, formononetin dan glycetin), yang jumlahnya lebih sedikit yaitu komestan, lactones dan teroles (Wolf, 2000).

4) Ekstraksi

Ekstraksi adalah peristiwa pemindahan zat terlarut (solut) diantara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Adijuwana, 1989). Ekstraksi dapat diartikan juga cara untuk memisahkan campuran beberapa zat menjadi komponen-komponen yang terpisah. Ekstraksi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu fase air (*aqueous phase*) dan fase organik (*organic phase*). Ekstraksi fase air menggunakan air sebagai pelarut sedangkan ekstraksi fase organik menggunakan pelarut organik seperti kloroform, eter, dan sebagainya. Kelarutan zat di dalam pelarut tergantung dari kepolarannya. Zat yang polar hanya larut dalam pelarut polar, sedangkan zat yang non polar hanya larut dalam pelarut non polar. Ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi fase organik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kacang merah

2.1.1 Karakteristik kacang merah

Kacang merah merupakan tanaman semusim yang berbentuk perdu. Kacang merah sangat digemari oleh masyarakat, karena rasanya enak dan gurih (Gambar 2.1). Kacang merah merupakan sumber protein nabati dan banyak mengandung vitamin A, vitamin B, dan vitamin C, terutama pada bagian bijinya (Sunaryo dan Rismunandar, 1984).



Gambar 2.1. Tanaman dan biji kacang merah (*Phaseolus vulgaris*, L.)

Kacang merah, dalam lingkungan masyarakat, dapat dengan mudah di tanam di daerah-daerah dengan ketinggian antara 300-600 m dari permukaan air laut. Tempat-tempat yang tingginya lebih dari 1000 m di atas permukaan laut pun merupakan tempat yang baik untuk bertanam kacang merah ini. Untuk perawatan tanaman ini memerlukan beberapa perlakuan khusus, tapi tidak sulit dilakukan. Syarat-syarat penting yang harus diperhatikan untuk pertumbuhannya yaitu ketersediaan air tanah yang cukup dan tidak menggenang,

suhu antara 20-25°C, iklimnya kering selama pertumbuhan, dan derajat keasaman (*pH*) berkisar antara 5,5-6. Waktu bertanam yang paling baik ialah menjelang akhir musim hujan (Maret/April) atau pada musim hujan, asalkan pembuangan airnya memadai dan teratur, sehingga tidak menyebabkan adanya air yang menggenang. Tanaman kacang merah ini sangat responsif terhadap tingkat kesuburan tanah. Pada tanah yang subur pertumbuhan vegetatifnya lebih dominan dibandingkan dengan pertumbuhan generatifnya. (Sunaryo dan Rismunandar, 1984).

2.1.2 Jenis kacang merah

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) termasuk sub famili *Papilionacea*, famili *Leguminosae*. Berdasarkan cara tumbuhnya, kacang merah dapat dibedakan menjadi 2 macam, yaitu yang membelit (merambat) dan yang tidak membelit. Sunaryo dan Rismunandar (1984) menyatakan bahwa dari golongan yang membelit itu diantaranya ada yang disebut 'buncis', kacang lompeh, kacang kopak, dan lain-lain. Dalam genus *phaseolus*, kacang merah (*Phaseolus vulgaris, L.*) adalah spesies yang paling banyak dibudidayakan. Persentase produksi *Phaseolus vulgaris* mencapai 95% dari total produksi kacang-kacangan dalam genus *phaseolus* ini. Total produksi kacang *Phaseolus* dunia mencapai 8,3 juta ton/tahun.

2.1.3 Klasifikasi kacang merah

Berdasarkan USDA (United State Departement of Agriculture)

klasifikasi kacang merah yaitu sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Superdevisiion : Spermatophyta
Devisiion : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Rosidae
Order : Fabales
Family : Fabaceae/ Leguminosae
Genus : *Phaseolus L.*
Spesies : *Phaseolus vulgaris, L.*

2.1.4 Kandungan Gizi Kacang merah

Kacang merah banyak mengandung protein dan karbohidrat, serta bebas kolesterol sehingga aman untuk dikonsumsi oleh semua kelompok umur. Protein kacang merah juga dapat digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol LDL yang bersifat jahat bagi kesehatan manusia, serta meningkatkan kadar kolesterol HDL yang bersifat baik bagi kesehatan manusia (Astawan, 2009).

Komposisi zat gizi biji kacang merah sangat bervariasi, tergantung pada kondisi tanaman dan cara perawatannya. Jenis-jenis protein yang terdapat dalam kacang merah adalah 20% faseolin (berat kering), 2% faseolin, 0,36-0,40% konfaseolin (Tabel 2.1 dan tabel 2.2).

Tabel 2.1. Komposisi Zat Gizi Kacang Merah Per 100 gram

No	Komponen	Per 100g Kacang Merah
1.	Energi (mg)	336
2.	Protein (g)	22,3
3.	Lemak (g)	1,7
4.	Karbohidrat (g)	61,2
5.	Kalsium (mg)	260
6.	Fosfor (mg)	410
7.	Zat besi (mg)	5,8
8.	Vitamin A (SI)	30
9.	Vitamin B1 (mg)	0,5
10.	Vitamin B2 (mg)	0,2

(Sumber: Direktorat Gizi, Depkes, 1992)

Tabel 2.2. Komposisi Asam Amino dalam Kacang Merah

No	Komponen Asam Amino	mg/g protein
1.	Isoleusin	41,52
2.	Leusin	76,16
3.	Lisin	72
4.	Metionin	10,56
5.	Fenilalanin	53,16
6.	Tirosin	25,28
7.	Triptofan	10,08
8.	Valin	45,92
9.	Arginin	56,80
10.	Histidin	28,32
11.	Alanin	52,16
12.	Sistein	8,48

(Sumber: Kay, 1979)

Kandungan karbohidrat pada kacang merah juga sangat tinggi, yaitu mencapai 61gr/100gr. Komponen karbohidrat pada kacang merah terdiri dari gula 1,6%, dekstrin 2,7%, pati 35,2%, pentosa 8,4%, galaktan 1,3%, dan pektin 0,7%. Tingginya kadar karbohidrat pada kacang merah merupakan sumber energi yang baik, yaitu sekitar 348 kkal per 100 gram, sedangkan kadar lemaknya relatif rendah, yaitu 1,5 g per 100 g. Adapun komponen lemak pada kacang merah terdiri atas asam lemak jenuh 19% dan asam lemak tak jenuh 63,3%. Selain itu,

kacang merah merupakan sumber mineral yang baik. Komposisi mineral per 100 gram kacang merah kering adalah 410mg fosfor, 260 mg kalsium, 194 mg mangan, 5,8 mg besi, 0,95 mg tembaga, serta 15 mg natrium (Astawan, 2009).

Djamil dan Tria (2009), dalam artikelnya menuliskan bahwa kacang merah mengandung berbagai jenis zat kimia. Berikut ini merupakan hasil penapisan fitokimia ekstrak kacang merah dalam penelitian tersebut (Tabel 2.3):

Tabel 2.3. Komposisi Senyawa Kimia yang Terdapat Dalam Ekstrak Kacang Merah

Nama senyawa	Hasil analisis kandungan kacang merah
Alkaloid	-
Flavanoid	+
Saponin	+
Tanin	+
Kuinon	-
Steroid/triterpenoid	+
Kumarin	+
Minyak atsiri	-

2.1.5 Kandungan Fitoestrogen Kacang Merah

Pada tabel 2.3. diatas dapat diketahui bahwa dalam kacang merah mengandung zat kimia berupa fitroestrogen berupa senyawa flavanoid. Menurut Biben (2012) fitoestrogen adalah senyawa yang terkandung dalam kelompok tumbuhan, baik biji-bijian, kacang-kacangan, sayur-sayuran, dan buah-buahan yang memiliki sifat menyerupai hormon estrogen. Meskipun saat ini peran fitoestrogen menimbulkan pro dan kontra terhadap perannya pada sistem reproduksi, namun konsumsi makanan yang mengandung fitoestrogen terus meningkat. Selain karena masyarakat telah terbiasa mengkonsumsi makanan yang mengandung fitoestrogen, peningkatan ini juga terkait dengan berkurangnya

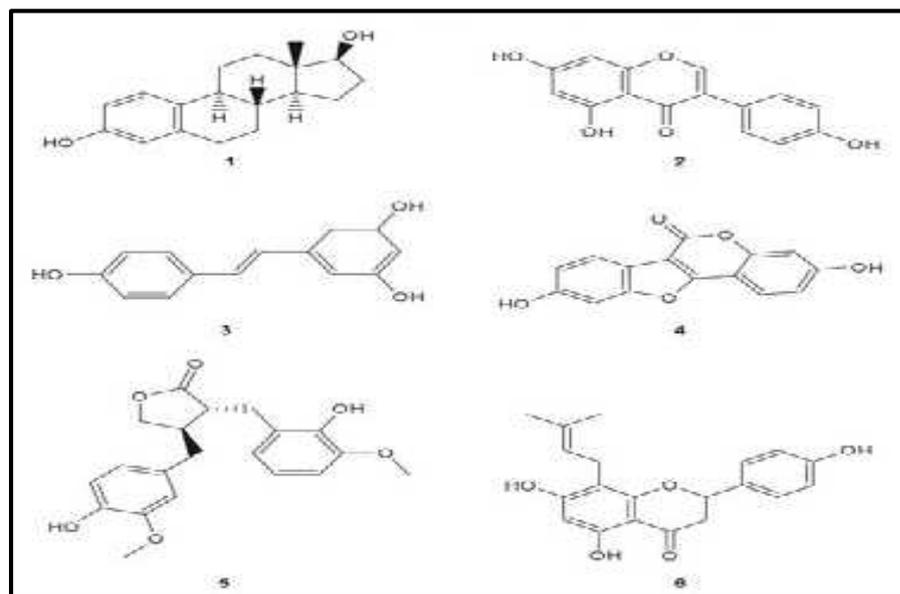
penyakit-penyakit reproduksi akibat mengkonsumsi fitoestrogen. Hasil penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa dengan mengkonsumsi fitoestrogen penyakit-penyakit reproduksi yang terkait dengan estrogen dan fitoestrogen relatif menurun.

Berdasarkan 300 jenis tumbuhan yang telah diidentifikasi terdapat 20 golongan tanaman memiliki senyawa yang sifatnya seperti estrogen. Banyak diantara tumbuhan yang termasuk golongan ini menjadi bahan makanan sehari-hari seperti bawang putih, gandum, kacang-kacangan, beras, kentang, wortel, apel, kurma, biji kopi, dan berbagai jenis sayuran. Dari kelompok fitoestrogen ini yang paling banyak diteliti adalah kelompok lignan yaitu buah-buahan dan sayur-sayuran, kelompok isoflavon yaitu kacang-kacangan dan biji-bijian, dan kelompok kumestan yaitu rumput-rumputan dan biji bunga matahari (Biben, 2012).

Fitoestrogen merupakan senyawa alami yang berasal dari tumbuhan. Struktur kimia dan fungsinya mirip dengan hormon 17β -estradiol, mengandung komponen defenolik yang berubah menjadi bahan estrogenik dalam saluran cerna (Gambar 2.2.). Dikenal 2 klasifikasi biokimia yaitu lignan (enterolacton, enterodiol) dan isoflavon (genistein, daizein, bio-chanin-A, formononetin dan glycetin). Fitoestrogen genestein dan daizein banyak terdapat dalam kacang-kacangan (Wolf, 2000).

Afinitas ikatan masing-masing anggota fitoestrogen dengan reseptor estrogen (RE) berbeda-beda. Rasio afinitas ikatan relatif genistein dan 17β -estradiol terhadap RE- adalah $36/100$, sedangkan terhadap RE- sebesar $5/100$.

RE- banyak ditemukan pada kelenjar prostat, ovarium, paru-paru, kandung kemih, ginjal, uterus dan testis, sehingga organ-organ tersebut lebih responsif terhadap fitoestrogen.



Gambar 2.2. Persamaan struktur antara fitoestrogen dan estradiol : (1) 17 -estradiol, (2) genistein (isoflavon), (3) trans- resveratrol (stibene), (4) coumestrol (coumestan), (5)mataresinol (lignan), dan (6) 8-prenyl naringenin. (Sumber: Elsevier, 2012)

Efek klinis fitoestrogen diantaranya yaitu menurunkan keluhan klimakterium, mencegah osteoporosis, efek perlindungan terhadap system kardiovaskuler, dan pencegahan keganasan kanker payudara dan prostat (Wolf, 2000). USDA menyatakan bahwa dalam 100 g kacang merah (*Phaseolus vulgaris*, L.) mentah terkandung fitoestrogen jenis isoflavon yang terdiri dari 0,29 mg genistein dan 0,30 mg daidzein, sehingga total isoflavon dalam 100 g kacang merah adalah 0,59 mg. Selain mengandung fitoestrogen jenis isoflavon, kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) juga mengandung fitoestrogen jenis coumestan dengan jumlah 0,01 mg/100 g kacang merah.

Mekanisme kerja fitoestrogen didalam tubuh melalui genomik dan nongenomik (Darmadi dkk., 2011). Fitoestrogen dapat melewati membran sel serta berinteraksi dengan reseptor dan enzim, karena fitoestrogen mempunyai berat molekul yang kecil.

2.1.5.1 Mekanisme genomik (aktivasi langsung melalui estrogen reseptor/ER)

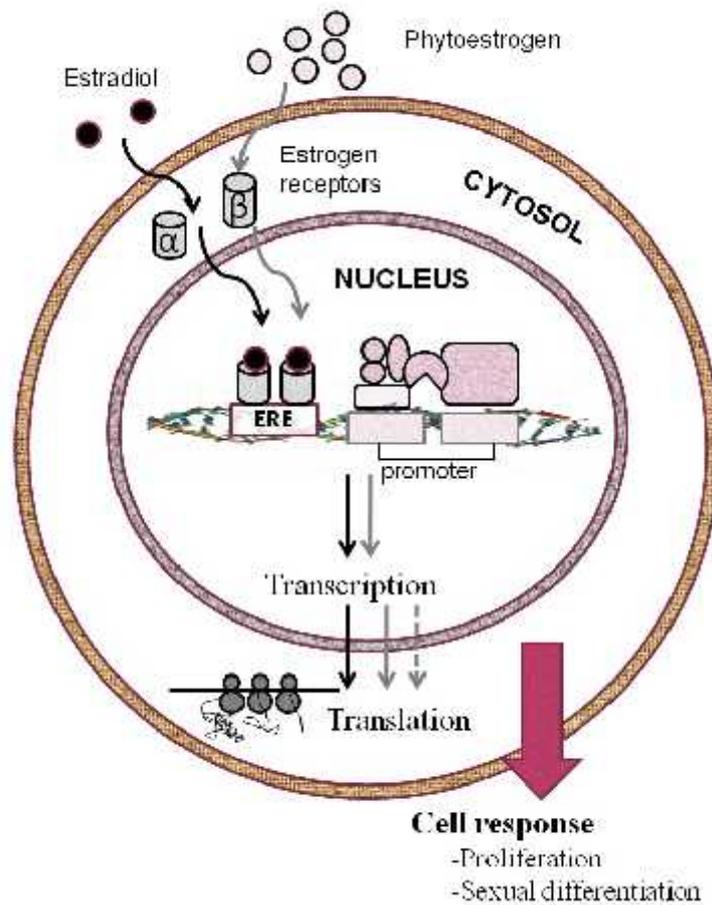
Pada mekanisme genomik, fitoestrogen bekerja melalui 2 cara yaitu fitoestrogen yang berikatan dengan reseptor estrogen mempengaruhi transkripsi gen targetnya sehingga menimbulkan efek seperti estrogen (efek estrogenik). Kedua fitoestrogen tidak langsung berikatan dengan reseptor estrogen (indirect genomik) dengan mempengaruhi kadar estrogen dalam sirkulasi (Mostrom dan Evans, 2012). Reseptor estrogen dalam jaringan tubuh terdiri dari 2 macam, yaitu reseptor alfa (ER α) dan reseptor beta (ER β) dengan tempat distribusi yang berbeda. Reseptor α lebih banyak terdistribusi pada jaringan penyusun organ reproduksi diantaranya uterus, vagina, ovarium, kelenjar mammae, hipotalamus, sel-sel endotel, dan otot polos vaskular. Reseptor β terdistribusi di luar jaringan reproduksi. Perbedaan letak reseptor ini menyebabkan perbedaan efek paparan senyawa estrogenik.

Ikatan fitoestrogen dengan ER dikelompokkan menjadi 3 kelas, yaitu fitoestrogen yang berikatan dengan ER α (misalnya *preynlaringenin*) dan fitoestrogen yang berikatan dengan ER β (misalnya *genistein* atau *silibinin*), dan fitoestrogen yang tidak berikatan dengan ER α maupun ER β adalah (misalnya *zearalenone*) (Duffy dkk., 2007; Darmadi dkk., 2011). *Genistein* memiliki

afinitas yang lebih besar daripada *deidzein* terhadap ER- α . Efek *genistein* lebih efektif pada ER- α daripada ER- β . Hal ini terjadi karena ikatan ER- α bersifat agonis penuh, dan ER- β agonis parsial (Sutrisno, 2010).

2.1.5.2 Mekanisme nongenomik

Mekanisme nongenomik bekerja melalui penghambatan tyrosin kinase, penghambatan DNA topoisomerase, aktivitas antioksidan, penghambatan angiogenesis, rangsangan SHBG, penghambatan reduktase 17 β -OH-steroid-dehydrogenase dan enzim aromatase (Duffy dkk., 2007). Struktur kimia fitoestrogen memiliki kemiripan dengan struktur kimia estrogen pada mammalia. Cincin fenolat pada isoflavon merupakan struktur penting pada sebagian besar komponen isoflavon yang berfungsi untuk berikatan dengan reseptor estrogen seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.3 (Leclercq dan Heuson, 1979). Fitoestrogen merupakan kompetitor aktif estrogen alami terhadap reseptor estrogen, terutama reseptor ER- α (Whitten dan Pattisaul, 2001). Sifat estrogenik dari isoflavon disebabkan oleh cincin A-C mirip cincin AB pada estrogen dan mirip gugus hidroksil dalam posisi 5, sehingga memainkan peran penting dalam meningkatkan aktifitas estrogen.



Gambar 2.3. Mekanisme kerja fitoestrogen (Whitten dan Patisaul, 2001).

Paparan fitoestrogen dalam bentuk isoflavon terbukti mempengaruhi organ reproduksi. Berdasarkan hasil penelitian Patisaul, dkk. (2000) pada tikus putih dewasa yang diberikan perlakuan isoflavon phytoestrogen menunjukkan adanya peningkatan 27% pada ekspresi mRNA diotak yang berikatan dengan ER. Menurut Hikmah (2014) kandungan isoflavon yang terdapat pada fitoestrogen dapat memberikan efek estrogenik dan mampu memperbaiki tebal endometrium. Proses ini melalui mekanisme seperti yang dijelaskan oleh Cooke dkk. (1998) yakni dengan cara fitoestrogen akan berikatan dengan reseptor hormon pada sel target sehingga mampu mengubah konformasi reseptor hormon.

Perubahan konformasi ini menyebabkan kompleks fitoestrogen-reseptor menjadi aktif sehingga mampu berikatan dengan tempat pengikatan (*binding site*) pada rantai DNA, khususnya pada sisi akseptor. Interaksi antara kompleks fitoestrogen reseptor dengan sisi akseptor DNA menyebabkan ekspresi gen meningkat. Ekspresi gen ini dikatalisis oleh enzim RNA polymerase yang menyebabkan peningkatan mRNA. Pada sisi lain sintesis tRNA juga akan meningkat sehingga pada akhirnya sintesis materi sel menjadi meningkat yang mendukung aktivitas proliferasi sel.

2.2 Fitoestrogen

Fitoestrogen merupakan senyawa dari tumbuhan yang memiliki kemiripan struktur dan fungsi dengan estrogen sehingga dapat menunjukkan sifat agonis pada *Estrogen Receptor* (ER) (Murkies dkk., 1998). Kemampuan meniru efek estrogen oleh fitoestrogen didasarkan pada keberadaan senyawa dengan BM setara dengan estrogen (272 g/mol), cincin fenolik sebagai *binding site* dan memiliki inti dengan dua gugus hidroksil dengan jarak 11,0-11,5Å (Benassayag dkk., 2002). Terdapat 4 golongan utama senyawa fitoestrogen yang terkandung di dalam tumbuhan yaitu *flavonoid*, *coumestan*, *lignan*, dan *stilben* (Ross dan Kasum, 2002).

Flavonoid terdapat pada kacang-kacangan dan biji-bijian. Lignan terdapat pada buah-buahan, seperti apel, pir, adas; padi-padian, seperti beras, gandum, barley, oat; sayur-sayuran misalnya wortel. Lignan juga ditemukan pada bawang merah, bawang putih; dan biji-bijian, seperti biji bunga matahari, biji rami, dan

biji labu kuning. Kandungan lignan yang tinggi terdapat pada *flaxseed* atau *linseed* (Murkies dkk., 1998). Satu tanaman biasanya mengandung lebih dari satu jenis senyawa fitoestrogen (Usui, 2006).

Efek estrogenik yang dihasilkan oleh fitoestrogen adalah 102 hingga 103 kali lebih rendah dibandingkan efek estrogenik dari 17 β -estradiol yang merupakan estrogen endogen dalam tubuh (Benassayag dkk., 2002). Hal ini disebabkan karena afinitas fitoestrogen terhadap reseptor estrogen lebih rendah jika dibandingkan dengan estrogen (Cederroth dkk., 2007). Fitoestrogen dapat berikatan dengan reseptor estrogen, baik ER- α maupun ER- β , dan berfungsi sebagai antagonis maupun agonis reseptor estrogen (Benassayag dkk., 2002). Akibatnya, fitoestrogen dapat mempengaruhi regulasi siklus ovarium dan daur estrus, mendorong pertumbuhan, diferensiasi, dan aktivitas fisiologi saluran reproduksi, pituitari, payudara, dan organ lain (Whitten dan Patisaul, 2001). Penelitian Knight dan Edden (1996) menemukan bahwa fitoestrogen mampu menghambat pembentukan dan pertumbuhan kanker pada manusia. Seiring dengan perkembangan penelitian tersebut, fitoestrogen sangat menjanjikan sebagai sediaan untuk alternatif pengganti HRT (Irianto, 2014).

2.2.1 Senyawa Isoflavon pada Fitoestrogen

Isoflavon terdiri atas struktur dasar C6-C3-C6 yang secara alami disintesis oleh tumbuh-tumbuhan dari senyawa asam amino aromatik fenilalanin atau tirosin. Biosintesis tersebut berlangsung secara bertahap dan melalui sederetan senyawa antara yaitu asam sinamat, asam kumarat, kalkon, flavon, dan

isoflavon. Berdasarkan biosintesis tersebut maka isoflavon digolongkan sebagai senyawa metabolit sekunder (Pawiroharsono, 2007).

Pada umumnya, senyawa metabolit sekunder disintesis oleh mikroba tertentu, namun tidak menjadi substrat untuk kebutuhan fisiologis pokok mikroba tersebut, misalnya aktivitas hidup atau pertumbuhan. Meskipun tidak dibutuhkan untuk pertumbuhan, senyawa metabolit sekunder dapat juga berfungsi sebagai nutrisi darurat untuk mempertahankan hidup. Senyawa metabolit sekunder biasanya terbentuk setelah fase pertumbuhan logaritmik atau fase stationer, sebagai akibat keterbatasan nutrisi dalam medium pertumbuhannya. Keterbatasan nutrisi dalam medium akan merangsang dihasilkan enzim-enzim yang berperan untuk pembentukan metabolit sekunder dengan memanfaatkan metabolit primer untuk mempertahankan kelangsungan hidup (Pawiroharsono, 2007).

Isoflavon termasuk dalam kelompok flavonoid (1,2-diarilpropan) dan merupakan kelompok yang terbesar dalam kelompok tersebut. Meskipun isoflavon merupakan salah satu metabolit sekunder, tetapi ternyata pada mikroba seperti bakteri, algae, jamur dan lumut tidak mengandung isoflavon, karena mikroba tersebut tidak mempunyai kemampuan untuk mensintesisnya. Meskipun demikian mikroba-mikroba tertentu mampu melakukan transformasi senyawa isoflavon.

2.2.2 Bioaktivitas Isoflavon

Bioaktivitas fisiologis senyawa isoflavon telah banyak diteliti dan ternyata menunjukkan berbagai aktivitas berkaitan dengan struktur senyawanya (Oilis, 1962 dalam Pawiroharsono, 2007). Aktivitas suatu senyawa ditentukan pula oleh gugus-gugus yang terdapat pada struktur tersebut. Dengan demikian, dengan cara derivatisasi secara kimia dan biologis, isoflavon dapat dibentuk menjadi senyawa-senyawa aktif yang diinginkan. Menurut Berry dkk. (2003), aktivitas suatu senyawa ditentukan pula oleh gugus –OH ganda, terutama dengan gugus C=O pada posisi C-3 dengan gugus –OH pada posisi C-2 atau pada posisi C-5. Hasil transformasi isoflavon selama fermentasi tempe misalnya, dapat berupa *daidzein*, *genistein*, *glisitein* dan *Fakor-II*. Gugus fungsi pada senyawa-senyawa tersebut memungkinkan terbentuknya kompleks dengan logam.

Aktivitas estrogenik isoflavon terkait dengan struktur kimianya yang mirip dengan stilbestrol, yang biasa digunakan sebagai obat estrogenik. Bahkan, isoflavon mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dari stilbestrol. Menurut Oilis (1962) dalam Pawiroharsono (2007), daidzein merupakan senyawa isoflavon yang aktivitas estrogeniknya lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa isoflavon lainnya. Aktivitas estrogenik tersebut terkait dengan struktur isoflavon yang dapat ditransformasikan menjadi equol yang mempunyai struktur fenolik mirip dengan hormon estrogen.

2.2.3 Senyawa Isoflavon untuk kesehatan

Jenis senyawa isoflavon di alam sangat bervariasi. Beberapa diantaranya telah berhasil diidentifikasi struktur kimianya dan diketahui fungsi fisiologisnya, serta telah dapat dimanfaatkan untuk obat-obatan. Berbagai potensi senyawa isoflavon untuk keperluan kesehatan antara lain :

a. Anti-inflamasi

Mekanisme anti-inflamasi terjadi melalui efek penghambatan jalur metabolisme asam arachidonat, pembentukan prostaglandin, pelepasan histamin, atau aktivitas *radical scavenging* suatu molekul. Melalui mekanisme tersebut, sel lebih terlindung dari pengaruh negatif, sehingga dapat meningkatkan viabilitas sel. Senyawa flavonoid yang dapat berfungsi sebagai anti-inflamasi adalah toksifolin, biozilin, haematoksin, gosipin, prosianidin, nepritin, dan lain-lain.

b. Anti-tumor/Anti-kanker

Senyawa isoflavon yang berpotensi sebagai antitumor/antikanker adalah genistein yang merupakan isoflavon aglikon (bebas). Genistein merupakan salah satu komponen yang banyak terdapat pada kedelai dan tempe. Penghambatan sel kanker oleh genistein diterangkan oleh Peterson dkk., (1997), melalui mekanisme sebagai berikut :

- (1) penghambatan pembelahan/proliferasi sel (baik sel normal, sel yang terinduksi oleh faktor pertumbuhan sitokin, maupun sel kanker payudara yang terinduksi dengan nonil-fenol atau bi-Murenol A) yang diakibatkan oleh penghambatan pembentukan membran sel, khususnya penghambatan pembentukan protein yang mengandung tirosin;

- (2) penghambatan aktivitas enzim DNA isomerase II;
- (3) penghambatan regulasi siklus sel;
- (4) sifat antioksidan dan anti-angiogenik yang disebabkan oleh sifat reaktif terhadap senyawa radikal bebas;
- (5) sifat mutagenik pada gen endoglin (gen transforman faktor pertumbuhan beta atau TGF). Mekanisme tersebut dapat berlangsung apabila konsentrasi genestein lebih besar dari 5 μ M.

c. Anti Virus

Mekanisme penghambatan senyawa flavonoid pada virus diduga terbentuk melalui penghambatan sintesa asam nukleat (DNA atau RNA) dan pada translasi virion atau pembelahan dari lipoprotein. Uji klinis menunjukkan bahwa senyawa flavonoid tersebut berpotensi menyembuhkan demam yang disebabkan oleh rhinovirus, yaitu dengan cara pemberian intravena. Flavonoid juga mampu menyembuhkan hepatitis B. Berbagai penelitian tentang potensi flavonoid dalam mengobati penyakit liver yang lain masih terus berlangsung (Pawiroharsono, 2007).

d. Anti-allergi

Aktivitas anti-allergi bekerja melalui mekanisme sebagai berikut :

- (1) Penghambatan pelepasan histamin dari mastosit, yaitu sel yang mengandung granula, histamin, serotonin, dan heparin;
- (2) Penghambatan oxidative nukleosid-3'',5'' siklik monofast fosfodiesterase, fosfatase, alkalin, dan penyerapan Ca;
- (3) Ikut terlibat dalam pembentukan fosfoprotein (Pawiroharsono, 2007).

Senyawa-senyawa flavonoid lainnya yang digunakan sebagai anti-allergi antara lain terbukronil, proksikromil, dan kromon.

e. Penyakit kardiovaskuler

Berbagai pengaruh positif isoflavon terhadap sistem peredaran darah dan penyakit jantung banyak ditunjukkan oleh para peneliti pada aspek yang berlainan. Khususnya isoflavon pada tempe yang aktif sebagai antioksidan, yaitu 6,7,4- trihidroksi isoflavon (Faktor-II), terbukti berpotensi sebagai anti konstriksi pembuluh darah (konsentrasi 5µg/ml) dan juga berpotensi menghambat pembentukan LDL (*low density lipoprotein*). Dengan demikian isoflavon dapat mengurangi terjadinya aterosclerosis pada pembuluh darah (Pawiroharsono, 2007). Pengaruh isoflavon terhadap penurunan tekanan darah dan resiko CVD (*cardio vascular deseases*) banyak dihubungkan dengan sifat hipolipidemik dan hipokholesteremik senyawa isoflavon (Teramoto dkk., 2000).

f. Anti kolesterol

Efek isoflavon terhadap penurunan kolesterol terbukti tidak saja pada hewan percobaan seperti tikus dan kelinci, tetapi juga manusia. Penelitian dengan menggunakan tepung kedelai sebagai perlakuan, menunjukkan bahwa bukan hanya kadar kolesterol yang menurun, tetapi kadar trigliserida VLDL (*very low density lipoprotein*) dan LDL (*low density lipoprotein*) juga menurun. Di sisi lain, tepung kedelai dapat meningkatkan HDL (*high density lipoprotein*) (Rugiero dan Likis, 2002). Mekanisme lain penurunan kolesterol oleh isoflavon dijelaskan melalui pengaruh peningkatan katabolisme sel lemak untuk pembentukan energi yang berakibat pada penurunan kandungan kolesterol (Biben, 2012).

g. Estrogen dan Osteoporosis

Pada wanita menjelang menopause, produksi estrogen menurun sehingga menimbulkan berbagai gangguan. Estrogen tidak saja berfungsi dalam sistem reproduksi, tetapi juga berfungsi untuk tulang, jantung, dan mungkin juga otak. Dalam melakukan kerjanya, estrogen membutuhkan reseptor estrogen (ERs) yang dapat “on/off” di bawah kendali gen pada kromosom yang disebut ER. Beberapa target organ seperti pertumbuhan dada, tulang, dan empedu responsif terhadap ER- tersebut. Isoflavon, khususnya genistein, dapat terikat dengan ER- . Walaupun ikatannya lemah, tetapi dengan ER- mempunyai ikatan sama dengan estrogen (Biben, 2012).

Senyawa isoflavon terbukti mempunyai efek hormonal, khususnya efek estrogenik. Efek estrogenik ini terkait dengan struktur isoflavon yang dapat ditransformasikan menjadi equol yang mempunyai struktur fenolik yang mirip dengan hormon estrogen. Mengingat hormon estrogen berpengaruh pula terhadap metabolisme tulang, terutama proses kalsifikasi, maka adanya isoflavon yang bersifat estrogenik dapat berpengaruh terhadap berlangsungnya proses kalsifikasi. Dengan kata lain, isoflavon dapat menghambat proses osteoporosis pada tulang sehingga tulang tetap padat dan masif (Whitten dan Patisaul, 2001).

2.3 Mencit

2.3.1 Karakteristik

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan mamalia hasil domestikasi mencit liar yang paling umum digunakan sebagai hewan percobaan pada laboratorium (Gambar 2.4). Banyak keunggulan yang dimiliki oleh mencit sebagai hewan percobaan, yaitu memiliki kesamaan fisiologis dengan manusia, siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, dan mudah dalam penanganan. Mencit merupakan hewan poliestrus, yaitu hewan yang mengalami estrus berkali-kali dalam setahun. Seekor mencit betina mengalami estrus setiap 4-5 hari sekali. Mencit betina memiliki lima pasang kelenjar susu, yaitu tiga pasang di bagian thoraks dan dua pasang di bagian inguinal.

Petter (1961) dalam Rudini (2015) menjelaskan bahwa mencit (*Mus musculus*) dan tikus (*Rattus norvegicus*) merupakan omnivora alami, sehat, kuat, kecil, dan jinak. Mencit umur empat minggu memiliki berat badan antara 18-20 g. Mencit memiliki rambut yang pendek halus dan berwarna putih serta ekor berwarna kemerahan. Mencit diklasifikasikan kedalam Kingdom *Animalia*, Filum *Chordata*, Klas *Mammalia*, Ordo *Rodentia*, Famili *Muridae*, Genus *Mus*, Spesies *Mus musculus*.



Gambar 2.4. Mencit Putih (*M. musculus*)

Mencit sebagai hewan percobaan sangat praktis untuk penelitian kuantitatif karena sifatnya yang mudah berkembang biak. Selain itu mencit juga dapat digunakan sebagai hewan model untuk mempelajari seleksi terhadap sifat-sifat kuantitatif. Sifat biologis mencit secara lengkap disajikan pada Tabel 2.6.

Tabel 2.4. Sifat Biologis Mencit (*M. musculus*)

Kriteria	Keterangan
Lama hidup	1-3 tahun
Lama produksi	9 bulan
Lama bunting	19-21 hari
Kawin sesudah beranak	19-24 jam
Umur sapih	21 hari
Umur dewasa kelamin	60 hari
Siap kawin	8 minggu
Siklus estrus	4-5 hari
Lama estrus	12-14 jam
Jantan dewasa	20-40 g
Betina dewasa	18-35 g
Berat lahir	0,5-1,0 g
Berat sapih	18-20 g
Jumlah anak lahir	6-15 ekor
Jumlah puting susu	5 pasang
Kecepatan tumbuh	1 g/hari

Sumber : Rudini, 2015

Kandang mencit biasanya berupa kotak yang terbuat dari plastik atau metal dengan ram kawat sebagai penutup bagian atas kandang. Kelengkapan lain yang diperlukan yaitu tempat pakan, tempat minum, dan alas kandang. Kandang mencit yang ideal memiliki luas 97 cm²/ekor untuk mencit dewasa sedangkan untuk betina dan anak-anaknya yaitu 390 cm². Syarat yang harus dipenuhi untuk kandang mencit yaitu, kandang harus memiliki luas yang cukup sehingga mencit bebas bergerak dan mempunyai tempat untuk sarang beranak. Satu kandang dapat ditempati 5- 6 ekor mencit. Mencit sebaiknya ditempatkan dalam kondisi yang

redup atau agak gelap dengan cahaya kurang dari 60 lux terutama untuk mencit albino. Kandang tidak boleh ditempatkan pada daerah yang bising, lembab dan berdebu serta yang paling penting adalah bahwa mencit lebih menyukai tempat yang gelap.

2.3.2 Kebutuhan dan Konversi Pakan

Mencit dewasa dapat mengkonsumsi pakan 3-5 g/hari. Zat-zat makanan yang dibutuhkan seekor mencit adalah protein 25%, lemak 12%, pati 45%, serat kasar maksimal 4%, dan abu 6% (Smith dan Mangkowitz, 1988). Tingkat konsumsi pakan dipengaruhi oleh jenis kelamin, ukuran tubuh, tingkat produksi, suhu, kecepatan pertumbuhan, keseimbangan zat-zat makanan dalam pakan dan cekaman yang dialami hewan tersebut. Konsumsi pakan mencit sangat dipengaruhi oleh aktifitas dan jenis alas yang digunakan pada kandang mencit. Aktifitas atau pergerakan yang tinggi terjadi pada mencit dengan kandang bersekat. Sekat kandang menjadi tempat untuk memanjat dan bergelantungan sehingga aktifitas makan menurun.

Air minum yang dibutuhkan oleh seekor mencit berkisar antara 4-8 ml/hari. Air minum untuk dikonsumsi harus selalu tersedia dan bersih karena mencit menyukai air yang baru. Seekor mencit mudah sekali kehilangan cairan tubuh sebab evaporasi tubuhnya yang tinggi. Ransum dan air minum mencit biasanya diberikan *ad libitum*. Konsumsi dapat meningkat seiring dengan meningkatnya berat badan, karena pada umumnya kapasitas saluran pencernaan meningkat, sehingga mampu menampung ransum dalam jumlah lebih banyak.

Menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988) konversi pakan merupakan jumlah ransum yang dikonsumsi untuk mendapatkan kenaikan satu satuan bobot hidup. Konversi pakan digunakan sebagai keefisienan seekor hewan menggunakan makanannya untuk memproduksi. Semakin kecil nilai konversi pakan maka semakin tinggi koefisienan hewan tersebut menggunakan pakan. Mencit mampu tumbuh 1 g/ekor/hari dengan konsumsi pakan 5 g/ekor/hari maka konversi pakan mencit berkisar antara 5-9.

2.3.3 Bobot Badan dan Laju Pertumbuhan

Pertumbuhan dapat terjadi secara *hiperplasi* (penambahan jumlah sel tubuh) dan *hipertrophy* (penambahan ukuran sel). Pertumbuhan anak sebelum sapih dipengaruhi oleh factor genetik, bobot lahir, jumlah anak sekelahiran, produksi air susu induk, perawatan induk, dan umur induk. Pertumbuhan mencit pada titik peralihan (*inflection point*) yang menandai bobot badan pada mencit jantan lebih tinggi dari mencit betina. Laju pertumbuhan mencit sesuai dengan analisis *multiphasik* kurva pertumbuhan. Kurva tersebut menunjukkan bahwa terdapat tiga fase pertumbuhan, yaitu pertumbuhan organ-organ tubuh, otak dan sistem saraf pada fase pertama, kemudian pertumbuhan tulang dan otot, serta fase terakhir adalah pertumbuhan atau penambahan lemak. Amri (2001) menyatakan laju pertumbuhan tertinggi dicapai setelah disapih sampai umur 29 hari, pada jantan dan betina masing-masing sebesar 0,55 g/hari dan 0,50 g/hari.

2.3.4 Sifat-sifat Reproduksi mencit

2.3.4.1 Jumlah Anak Sekelahiran

Jumlah anak sekelahiran adalah jumlah total anak hidup dan mati pada waktu dilahirkan. Jumlah anak sekelahiran mencit berkisar antara 8-11 ekor. Smith dan Mangkoewidjojo (1988) menyatakan bahwa rerata jumlah anak sekelahiran adalah enam ekor, meskipun mencit dapat melahirkan 15 ekor perkelahiran.

Besarnya jumlah anak sekelahiran dipengaruhi oleh bangsa hewan, umur induk, musim kelahiran, makanan, inbreeding, dan kondisi lingkungan. Faktor lingkungan yang sangat mempengaruhi jumlah kelahiran antara lain kualitas dan kuantitas pakan yang diberikan pada induk, musim kawin, jumlah sel telur yang dihasilkan serta tingkat kematian embrio. Apabila hewan yang kekurangan zat makanan bunting, maka pengambilan zat makanan oleh embrio yang sedang tumbuh akan merusak badannya. Kematian fetus dalam uterus atau kelahiran anak yang lemah dapat terjadi. Hewan jantan yang mengalami kekurangan makanan akan menurunkan jumlah dan kekuatan spermatozoa dan dapat menghentikan spermatogenesis. Jumlah sel telur yang dihasilkan dan tingkat awal kematian embrio sangat erat hubungannya dengan jumlah anak sekelahiran dalam sekali kelahiran.

2.3.4.2 Jumlah Anak Sapih

Jumlah anak sapih adalah jumlah anak yang dihitung berdasarkan jumlah anak yang hidup hingga umur disapih. Jumlah anak dipengaruhi beberapa faktor seperti umur induk, pemberian pakan, kondisi induk pada waktu dikawinkan, sistem perkawinan, pejantan yang digunakan, dan kematian dalam kandang hewan. Sistem perkawinan monogami dan poligami pada mencit berbeda pengaruhnya terhadap jumlah anak waktu sapih. Jumlah anak yang disapih akan meningkat bila program pembiakan dilakukan dengan sistem perkawinan poligami. Sistem monogami adalah seekor jantan dicampur dengan seekor betina, sedangkan sistem poligami dilakukan bila seekor jantan dicampur dengan 2-6 ekor betina. Tingkat mortalitas anak sangat berpengaruh terhadap jumlah anak sapihan.

2.3.4.3 Bobot Lahir

Bobot lahir adalah bobot badan suatu individu pada saat dilahirkan. Bobot lahir hewan ditentukan oleh pertumbuhan fetus sebelum lahir atau pertumbuhan selama di dalam kandungan induknya. Pertumbuhan sebelum lahir dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya mutu genetik hewan, umur serta bobot badan induk yang melahirkan, pakan induk dan suhu lingkungan selama kebuntingan. Faktor lingkungan termasuk ukuran, nutrisi induk, jumlah anak sekelahiran, ukuran plasenta dan tekanan iklim. Waktu fetus mulai tumbuh di dalam uterus, ia memperoleh zat-zat makanan dari induknya. Apabila zat-zat makanan dari induk tidak mencukupi selama kehamilan, maka bobot badan anak mencit pada waktu

dilahirkan akan rendah dan kekuatannya akan berkurang. Kekurangan vitamin dan mineral dalam ransum induk selama kebuntingan akan mempunyai pengaruh yang nyata terhadap kekuatan anak dengan tidak memperlihatkan pengaruh yang besar terhadap bobot lahir. Bobot lahir ringan tidak mempunyai pengaruh terhadap bentuk dewasa bila zat-zat makanan yang diberikan cukup setelah dilahirkan .

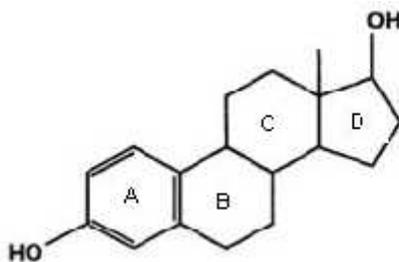
Suhu optimal untuk memelihara mencit berkisar antara 22⁰C dengan kelembaban udara 55%. Suhu lingkungan mempengaruhi bobot lahir mencit karena secara langsung mempengaruhi konsumsi ransum. Kondisi suhu yang tinggi dapat menyebabkan penurunan nafsu makan, sehingga memungkinkan terjadinya defisiensi zat pakan. Keadaan tersebut dapat mengakibatkan bobot lahir rendah. Bila suhu rendah, nafsu makan seekor hewan akan meningkat, sehingga memungkinkan terjadinya defisiensi zat pakan kecil, dan bobot lahir dapat lebih tinggi. Bobot lahir anak mencit umumnya berkisar antara 0,5-1,5g/ekor. Pendapat lain menyatakan bahwa bobot lahir berkisar antara 1-1,5 g/ekor. Tinggi rendahnya bobot lahir akan mempengaruhi performa anak.

2.4 Hormon Estrogen

Estrogen merupakan salah satu hormon seks yang berperan penting terutama bagi wanita. Estrogen berperan dalam pertumbuhan sel, diferensiasi, dan fungsi organ spesifik (O' lone dkk., 2004). Pada organ seksual, estrogen mengatur siklus menstruasi dan reproduksi, menstimulasi proliferasi sel-sel epitel uterus, jaringan duktus dan kelenjar pada payudara (Irianto, 2014). Selain itu estrogen menurunkan reabsorpsi tulang dan meningkatkan densitas tulang, mempengaruhi

lipid metabolisme dengan meningkatkan sintesis *High Density Lipoprotein* (HDL) dan menurunkan *Low Density Lipoprotein* (LDL). Estrogen juga menstimulasi produksi *Sex Hormon-Binding Globulin* (SHBG) di hati, meningkatkan konsentrasi garam empedu serta memfasilitasi memori verbal (Ruggiero dan Likis, 2002). Pada saluran gastrointestinal, estrogen diduga mampu mencegah kanker kolon, sedangkan pada kulit, estrogen mampu meningkatkan produksi kolagen dan mengurangi kerutan (Gruber dkk., 2002).

Estrogen tergolong sebagai hormon steroid yang memiliki 18 atom C. Hormon ini diproduksi oleh ovarium (dalam jumlah sedikit) oleh korteks kelenjar adrenal zona retikulusa (Ruggiero dan Likis, 2002). Hormon ini juga diperoleh dari konversi lemak perifer dari androstenedione (Ruggiero dan Likis, 2002). Terdapat tiga macam hormon estrogen alamiah utama dalam tubuh, yaitu 17 -estradiol, estron, dan estriol (Cao dkk., 2004 dalam Hernawati, 2014). Hormon 17 -estradiol (Gambar 2.3) merupakan hormon yang paling dominan karena paling banyak terdapat dalam tubuh dan aktivitasnya paling tinggi (Ruggiero dan Likis, 2002).



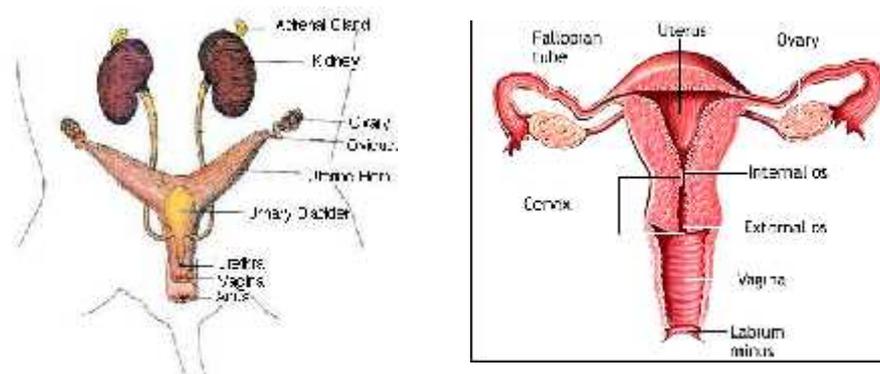
Gambar 2.5. Struktur kimia hormon estrogen 17 -estradiol (Maggiolini dkk., 2001 dalam Hernawati, 2014).

Struktur 17 β -estradiol terdiri dari empat cincin (A, B, C, dan D) dan dua gugus hidroksil (-OH) pada posisi 3 dan 17 (Gambar 2.3) yang penting untuk ikatan dengan ER. Aksi biologis hormon estrogen diperantarai oleh ER, yang termasuk dalam golongan reseptor inti (Matthews dan Gustafsson, 2003). Reseptor estrogen atau *estrogen receptor* (ER) mempunyai beberapa domain fungsional, yaitu *DNA-binding domain*, *ligand-binding domain*, *N-terminal domain*, dan *C-terminal domain*. Terdapat dua tipe ER, yaitu ER α dan ER β yang berbeda pada *C-terminal ligand-binding domain* dan *N-terminal transactivation domain* (O'lonc dkk., 2004). Reseptor estrogen (ER α) banyak terdapat pada endometrium, sel kanker payudara, dan stroma ovarium, sedangkan reseptor estrogen (ER β) terdistribusi luas pada sel granulosa, spermatid, ginjal, mukosa intestinal, parenkim paru-paru, tulang, otak, sel endotelial, dan kelenjar prostat.

Estrogen akan berdifusi dengan mudah melalui membran sel ke peredaran darah karena estrogen bersifat nonpolar. Pada organ target, estrogen berdifusi ke dalam sel, lalu melewati membran inti. Dalam inti sel, estrogen akan berikatan dengan ER. Kompleks ER akan mengikat DNA dan menginisiasi transkripsi gen yang akan menyebabkan produksi protein spesifik yang akan mempengaruhi aksi fisiologis pada jaringan target. Oleh sebab itu, jaringan yang menjadi target estrogen adalah jaringan yang terdiri dari sel-sel yang mengandung ER (Ruggiero dan Likis, 2002).

2.4.1 Estrogen dan perkembangan uterus

Estrogen sebagai hormon kelamin betina berperan penting dalam perkembangan organ reproduksi wanita, termasuk uterus (Gambar 2.5). Uterus manusia adalah suatu organ muskular berongga, berbentuk buah pir, berdinding tebal, dan terdiri dari otot-otot polos. Uterus terletak di pelvis minor, antara rektum di belakang dan kantong kemih di depan (Pearce, 2000). Estrogen yang disekresikan oleh ovarium berfungsi dalam perbesaran uterus pada masa pubertas, karena uterus memiliki respon tinggi terhadap estrogen (Lee dkk., 2005).



Gambar 2.6. Struktur anatomi uterus tikus dan manusia (Sutrisno, 2010)

Perubahan yang terjadi pada uterus karena rangsangan estrogen adalah peningkatan aktivitas enzim, sintesis DNA, RNA, dan protein serta kadar air dalam sel pada uterus. Peristiwa ini mengakibatkan peningkatan bobot uterus akibat masuknya air ke dalam jaringan yang diikuti oleh proliferasi sel-sel pada uterus (O'brien dkk., 2006). Sel berproliferasi mengikuti daur yang dinamakan siklus sel yang terdiri dari tiga keadaan yaitu sedang membelah (fase proliferaatif), dalam keadaan istirahat (tidak membelah, G₀) dan secara permanen tidak

membelah (Foster dkk., 2001). Oleh karena itu, siklus sel terbagi menjadi beberapa fase, antara lain fase G1, fase S, fase G2, dan fase M.

Fase G1 (*Gap-1*) merupakan fase yang paling menentukan keseluruhan siklus sel. Pada fase ini sel melakukan persiapan untuk sintesis DNA (Houvel dkk., 2005), yang meliputi sintesis protein-protein yang esensial untuk sintesis DNA sehingga sel yang telah melewati G1 akan memasuki fase S (Meiyanto, 2002). Fase S (sintesis DNA) ditandai adanya proses sintesis DNA dan replikasi genomnya. Pada fase ini, sel mereplikasi DNA menjadi 2 set DNA yang identik. Setelah selesai, sel memasuki fase G2. Pada fase G2, sel mengalami pertumbuhan dan melakukan sintesis protein untuk kelangsungan hidup 2 sel yang akan terbentuk. Setelah selesai, sel siap untuk masuk ke fase M. Pada fase M (mitosis) sel mengalami pembelahan (*cytokinesis*) menjadi dua sel yang identik. Kemudian sel dapat melanjutkan program *cell cycle* dengan memasuki fase G1 atau berhenti membelah (*quiescence*) dengan memasuki fase G0 (Houvel dkk., 2005).

Estrogen berperan pada proses transisi sel pada fase G1 ke fase S. Estrogen dapat memacu ekspresi protein-protein yang berperan dalam *cell cycle progression*, seperti CycD1, CDK4, CycE, dan CDK2 (Adelina dkk., 2008). Di sisi lain, estrogen juga mempengaruhi gen regulasi pertumbuhan (*growth regulatory gene*) sel yaitu protein Myc. Protein Myc berfungsi memblokir kemampuan CIP/KIP untuk menghambat CDK2, yaitu protein yang bertanggung jawab pada proses transisi sel dari fase G1 memasuki fase S (Foster dkk. 2001). Dengan demikian, proses proliferasi akan terpicu oleh estrogen dan senyawa yang mirip dengan estrogen (fitoestrogen).

2.4.2 Peran estrogen terhadap profil lipid darah

Hormon estrogen telah diketahui memiliki aktivitas sebagai protektor sistem kardiovaskular selama bertahun-tahun. Proteksi tersebut melalui mekanisme perlindungan langsung pada dinding pembuluh darah melalui regulasi senyawa antiatherogenik seperti *nitric oxide* dan secara tidak langsung dengan mengubah kadar kolesterol plasma di hati. Pada manusia, estrogen memodulasi profil lipid dalam darah yang meliputi kolesterol total, LDL, HDL, dan trigliserida (Kaufman dkk., 1997). Jalur metabolisme kolesterol melibatkan metabolisme asam lemak dalam tubuh. Proses ini diawali dengan karbohidrat yang diubah menjadi asam lemak di dalam hati, lalu ditransformasi lebih lanjut menjadi trigliserida. Trigliserida akan dibawa melalui aliran darah dalam bentuk VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) yang kaya trigliserida dan sedikit kolesterol. Kemudian, enzim lipoprotein lipase yang merupakan enzim endothelial akan mengubah trigliserida pada VLDL menjadi asam lemak bebas yang digunakan oleh jaringan perifer sebagai sumber energi. Hasilnya, partikel VLDL diubah menjadi IDL (*Intermediate Density Lipoprotein*) yang selanjutnya diubah menjadi HDL (Barter, 2005).

Kolesterol LDL merupakan sumber utama kolesterol yang terikat dengan apoprotein B (apoB). Fungsi utama LDL adalah meneruskan lemak ke jaringan ekstrahepatik yang mempunyai afinitas spesifik terhadap reseptor LDL. Melalui reseptor ini kebutuhan kolesterol dalam sel-sel tubuh dapat terpenuhi (Chen dkk., 2008). HDL berfungsi membuang kolesterol berlebih dari sel ekstrahepatik

kembali ke liver dan berperan penting dalam mempertahankan homeostatis kolesterol dalam plasma (Chen dkk., 2008; Barter, 2005).

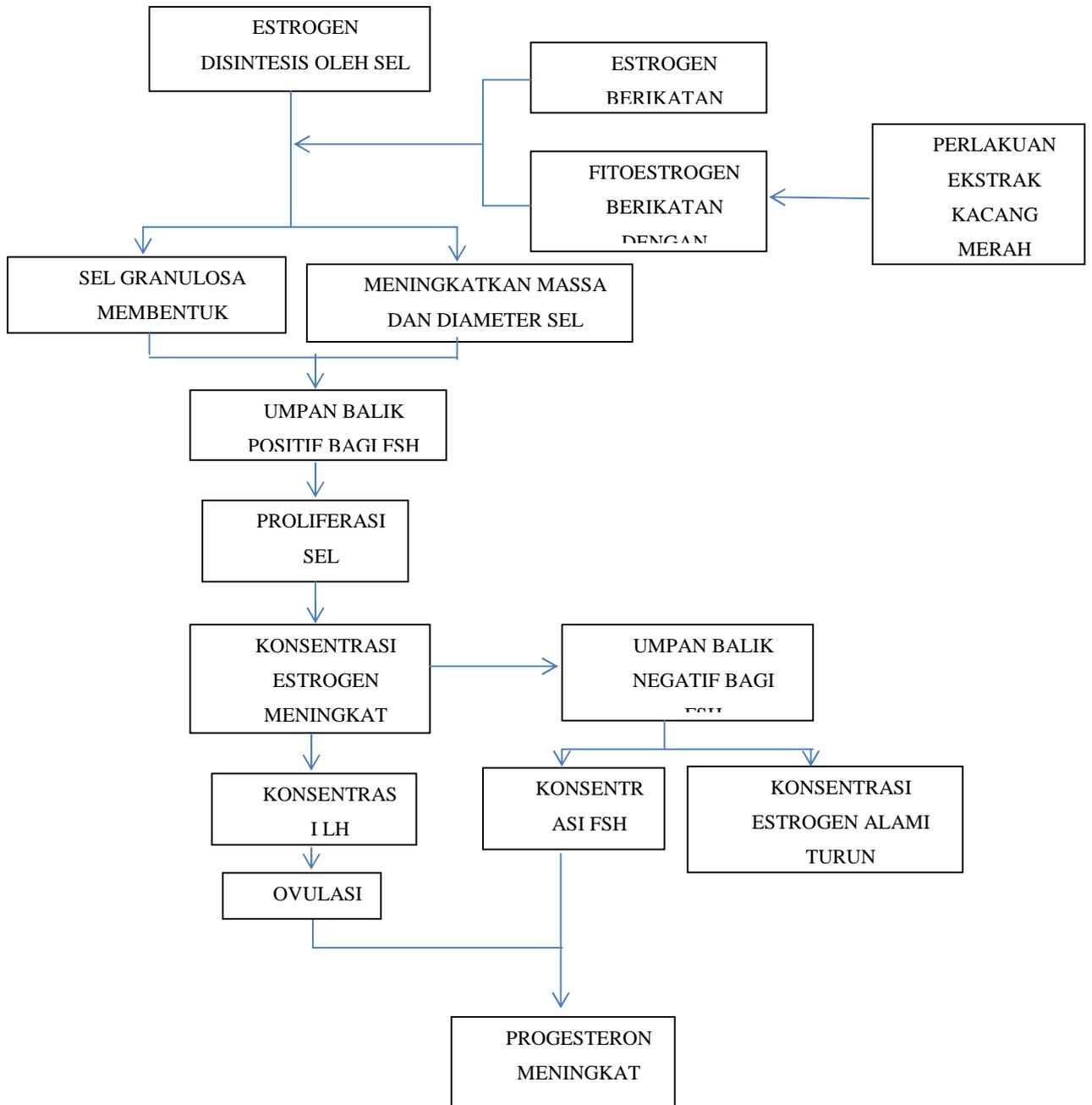
Kolesterol HDL yang disebut juga dengan lipoprotein A, mengandung 52% protein dan 48 % lemak (17 % kolesterol dan 6 % trigliserida) dan terikat pada apoprotein A, C, D, dan E. Lipoprotein ini disintesis oleh hati dalam bentuk apolipoprotein A-1 (apoA-1) yang mengandung sedikit lemak. Kemudian, apoA-1 akan memperoleh kolesterol tanpa esterifikasi dari sel perifer membentuk partikel HDL berbentuk cakram. Lalu cakram HDL ini memperoleh kolesterol tanpa esterifikasi dari lipoprotein plasma lain dan dari membran sel. ApoA-1 mengaktivasi enzim *Lecithin Cholesterol Acyltransferase* (LCAT) yang akan mengesterifikasi kolesterol membentuk partikel HDL yang berinti ester kolesterol. Partikel HDL membuang kelebihan kolesterolnya secara langsung kembali ke liver melalui *scavenger receptor* (SR-B1) untuk diekskresi ke empedu atau didaur-ulang atau secara tidak langsung dengan mentransfer ke fraksi VLDL/LDL dalam proses yang diperantarai oleh *Cholesteryl Ester Transfer Protein* (CETP) (Barter, 2005). Efek estrogen pada metabolisme lipid dimediasi oleh ER (Saltiki dan Alevizaki, 2007). Pengaturan kadar kolesterol darah oleh estrogen terkait dengan kerja estrogen pada jaringan adiposa dan hati (Szafran dan Korombel, 1998).

2.5 Kerangka Berfikir

Banyak jenis tumbuhan yang dapat menghasilkan senyawa yang menyerupai estrogen, yang disebut fitoestrogen, salah satunya yaitu dari golongan kacang-kacangan. Kacang merah merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang telah banyak dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari. Kacang merah mengandung senyawa alkaloid, flavanoid, saponin, tanin, kuinon, steroid/tripernoid, kumarin dan minyak atsiri. Kandungan senyawa flavonoid kacang merah, memiliki efek terhadap fertilitas.

Senyawa flavanoid yang serupa dengan fitoestrogen ini diduga dapat memiliki pengaruh terhadap aktivitas hormonal dalam tubuh. Adanya penambahan senyawa lain dari luar yang menyerupai estrogen, akan mempengaruhi sistem kerja dalam tubuh. Akbar (2010) menyatakan pelepasan hormon dirangsang oleh faktor-faktor hormonal melalui pembuluh darah. GnRH akan mempengaruhi sekresi FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*) dari hipofisis anterior.

Perkembangan folikel berjalan sesuai dengan siklus estrus yang berlangsung, sehingga perkembangan folikel ini juga dipengaruhi oleh aktivitas hormon yang bekerja pada setiap tahapnya. Hal inilah yang kemudian dapat menjadi perhatian, dimana adanya penambahan senyawa flavanoid dalam kacang merah diharapkan memiliki efek yang jelas terhadap perkembangan folikel ovarium mencit, serta dapat mengetahui jumlah dosis optimum yang dapat menunjukkan peningkatan perkembangan folikel telur mencit secara signifikan.



Gambar 2.7. Kerangka berpikir

2.6 Hipotesis

Berdasarkan diskripsi teori dan kerangka berpikir di atas, maka hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

Hipotesis awal (H_0) :

- 1) Tidak ada pengaruh dosis ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris L*) terhadap perkembangan folikel telur mencit (*Mus musculus*).
- 2) Tidak ada pengaruh lama pemberian ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris L*) terhadap perkembangan folikel telur mencit (*Mus musculus*).
- 3) Tidak ada interaksi antara dosis ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris L*) dan lama pemberian dosis terhadap perkembangan folikel telur mencit (*Mus musculus*).

Hipotesis alternatif (H_1) :

- 1) Ada pengaruh dosis ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris L*) terhadap perkembangan folikel telur mencit (*Mus musculus*).
- 2) Ada pengaruh lama pemberian ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris L*) terhadap perkembangan folikel telur mencit (*Mus musculus*).
- 3) Ada interaksi antara dosis ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris L*) dan lama pemberian dosis terhadap perkembangan folikel telur mencit (*Mus musculus*).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial. Faktor pertama adalah dosis ekstrak kacang merah dan faktor kedua adalah lama perlakuan. Ada 4 dosis ekstrak kacang merah yang dicobakan yaitu 0 mg/kg bb, 37 mg/kg bb, 50 mg/kg bb, dan 75mg/kg bb. Perlakuan-perlakuan tersebut masing-masing diberikan selama 15 atau 30 hari berturut-turut sehingga diperoleh 8 kombinasi perlakuan. Setiap kombinasi perlakuan menggunakan 5 ekor mencit sehingga pada penelitian digunakan 40 ekor mencit.

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris*, L). Kacang merah dibeli di pasar Cakranegara Mataram, dan proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Pendidikan Kimia Universitas Mataram. Metode ekstraksi yang dipilih dalam penelitian ini adalah maserasi dengan menggunakan etanol 70% sebagai pelarut.

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat yang diamati adalah jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, dan folikel de Graf, serta jumlah korpus luteum pasca perlakuan. Data-data tersebut diperoleh dengan mengamati sayatan histologis ovarium hewan percobaan.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei-September 2018 di laboratorium Pendidikan Kimia dan Laboratorium Pendidikan Biologi FKIP serta Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Mataram.

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi

Populasi adalah totalitas dari semua obyek atau individu yang memiliki karakteristik tertentu, jelas, dan lengkap yang akan diteliti. Dengan kata lain populasi adalah kumpulan dari keseluruhan pengukuran, objek, atau individu yang sedang dikaji. Populasi penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c.

3.4.2 Sampel

Sampel adalah bagian dari populasi yang diambil melalui suatu cara tertentu yang juga memiliki karakteristik tertentu, jelas, dan lengkap yang dianggap bisa mewakili populasi. Sampel merupakan bagian dari populasi. Sampel adalah sebagian karakteristik atau ciri yang dimiliki oleh suatu

populasi atau bagian kecil yang diambil dari anggota populasi sehingga bisa digunakan untuk mewakili populasinya. Sampel penelitian ini adalah 40 ekor mencit (*Mus musculus*) betina galur Balb/c umur 2 bulan dengan berat 18-22 gr yang telah diaklimatisasi selama seminggu.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

1. Alat yang digunakan untuk pemeliharaan mencit yaitu kandang mencit 24 buah, tempat pakan, tempat minum, timbangan analitik, dan alat suntik 5 ml.
2. Jarum *gavage* digunakan untuk mencekoki hewan percobaan dengan ekstrak kacang merah.
3. Alat yang digunakan untuk pembedahan yaitu toples untuk pembiusan, gunting bedah, scalpel, pinset, bak paraffin, dan jarum pentul.
4. Alat yang digunakan untuk pembuatan preparat histologi ovarium yaitu botol falkon, pipet tetes, gelas ukur, pisau, timer, blok kayu, oven paraffin, hot plate, kotak perparat, kaca benda, kaca penutup, mikrotom.
5. Alat yang digunakan untuk pengamatan dan pengambilan data yaitu mikroskop cahaya, mikrometer, alat tulis, dan kamera digital/optilab.

3.5.2 Bahan

Mencit betina umur ± 2 bulan, Pakan mencit/CP 551, aquadest, formalin 10%, garam fisiologis, Alkohol 70%, Etanol 70%, Pewarna Giemsa, ekstrak kacang

merah, Kloroform, sabun antiseptic, Xylol, paraffin, Canada balsam, gliserin, Pewarna eosin, hematoxylin, tisu, dan kapas

3.6 Cara Kerja

3.7.1 Tahap persiapan

- a. Menyiapkan mencit betina dengan umur \pm 2 bulan dengan berat 25-30 gram.
- b. Menyiapkan kandang mencit sebanyak 24 buah dengan ukuran 30 X 40 cm.
- c. Menyiapkan kacang merah yang sudah dikeringkan sebanyak 1 kg.
- d. Melakukan ekstraksi kacang merah dengan teknik ekstraksi maserasi

3.7.2 Pembuatan ekstrak Kacang Merah

- a. Biji kering kacang merah dihancurkan hingga menjadi bubuk.
- b. kemudian massa yang telah halus dimasukkan ke dalam maserator dan dituangi etanol 70% .
- c. Proses maserasi yang dilakukan selama 24 jam.
- d. Cairan hasil ekstraksi ditampung dan sisa ampas direndam kembali dengan etanol 70% dan dibiarkan selama 24 jam.
- e. Cairan hasil maserasi ditampung kembali dan dilakukan kembali maserasi pada sisa serbuk kacang merah hingga didapat tiga cairan hasil maserasi.
- f. Filtrat kemudian di uapkan dengan menggunakan Vaccum Rotary Evaporator pemanas waterbath suhu 60°C.

- g. Ekstrak yang telah agak mengental kemudian dipindahkan ke dalam gelas beaker dan dipanaskan dalam waterbath suhu 70°C sambil terus diaduk sampai mengental.
- h. Hasil ekstrak kacang merah yang telah mengental (berupa pasta) berwarna kecoklatan.
- i. Ekstrak yang digunakan sebagai bahan perlakuan diencerkan dalam aquades, yaitu 1 gr ekstrak kacang merah dilarutkan dalam aquades hingga volume mencapai 100ml.

3.7.3 Aklimatisasi

Mencit-mencit percobaan ditempatkan di dalam kandang dan dibiarkan beradaptasi selama seminggu sebelum diberi perlakuan.

3.7.4 Tahap pelaksanaan

- a. Pemberian ekstrak kacang merah.

Ekstrak kacang merah dengan dosis yang telah ditentukan diberikan setiap pagi secara oral engan menggunakan jarum gavage.

- b. Pakan dan air minum diberikan secara ad libitum.

- c. Penmeriksaan apus vagina.

Penmeriksaan apusan vagina dilakukan untuk mengetahui tahap siklus estrus pada mencit. Siklus estrus perlu diketahui karena perlakuan mulai dibeikan pada hewan percobaan pada fase diestrus. Prosedur pembuatan apusan vagina adalah kaca benda dibersihkan dengan alkohol 70%. Cotton bud dicelupkan ke

dalam garam fisiologis, kemudian disisipkan ke dalam vagina mencit sedalam 1 cm kemudian diputar perlahan dan merata sehingga jaringan mukosa vagina menempel pada permukaan cotton bud. Ujung cotton bud selanjutnya dioleskan pada kaca objek sambil diputar sehingga diperoleh olesan yang merata. Kaca objek kemudian dikeringanginkan dan difiksasi dengan methanol 70% selama 15 menit dan diwarnai dengan pewarna Giemsa selama 36 menit. Setelah itu, sediaan tersebut dicuci menggunakan air mengalir dan dikeringkan pada suhu kamar. Preparat apusan vagina kemudian diamati dibawah mikroskop cahaya lalu dilakukan pengamatan. Fase proestrus pada tikus betina berlangsung selama 12 jam. Apusan vagina mencit fase proestrus didominasi oleh sel-sel epitel berinti dan masih terlihat sejumlah leukosit. Fase estrus ditandai dengan kehadiran sel-sel menanduk dan lendir sedangkan fase metestrus ditandai dengan kehadiran leukosit dan sel-sel menanduk yang menumpuk, sementara fase diestrus ditandai dengan melimpahnya jumlah leukosit dan mulai terbentuknya kembali sel-sel berinti.

d. Pembuatan preparat histologis

Eutanasi dilakukan pada mencit pasca pemberian perlakuan yaitu pada hari ke-16 atau hari ke-31. Hewan yang telah mati kemudian dibedah dan ovariumnya diisolasi. Pembuatan preparat dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA, Universitas Mataram dengan prosedur sebagai berikut:

1. Fixation

Organ ovarium yang telah diisolasi dimasukkan ke dalam larutan fixative, yaitu formalin 10%.

2. Trimming

Trimming adalah tahapan yang dilakukan setelah proses fiksasi dengan melakukan pemotongan tipis jaringan setebal kurang lebih 4 mm.

3. Dehydration (Pengerinan)

Dehidrasi jaringan dimaksudkan untuk mengeluarkan air yang terkandung dalam jaringan, dengan menggunakan cairan dehidran yaitu alkohol bertingkat dengan waktu yang tertentu yaitu

- a. Alkohol 70%, dilakukan selama 1 jam perendaman
- b. Alkohol 80%, dilakukan selama 1 jam perendaman
- c. Alkohol 96%, dilakukan 1 jam perendaman
- d. Alkohol 96%, dilakukan 1 jam perendaman

4. Clearing (Penjernihan)

Proses ini bertujuan untuk menghilangkan alkohol, agar parafin dapat masuk ke dalam jaringan. Agen penjernih adalah Xylol dengan cara bertahap yaitu:

- a. Xylol, dilakukan 24 jam perendaman
- b. Xylol, dilakukan 1 jam perendaman
- c. Xylol, dilakukan 1 jam perendaman

5. Infiltrasi

Proses infiltrasi dilakukan di dalam oven (incubator) dengan perbandingan 3 xilol : 1 paraffin; 1 xilol : 1 paraffin; 1 xilol : 3 paraffin, dan terakhir xilol murni masing-masing selama 120 menit pada suhu 60°C.

6. Embedding (Penanaman)

Organ yang telah diinfiltrasi dengan paraffin selanjutnya ditanam di dalam paraffin cair kemudian dibiarkan membeku sehingga organ tertanam dalam blok paraffin. Blok paraffin yang berisi organ tersebut kemudian dilekatkan pada blok kayu ukuran 3x3 cm atau embedding cassette. Fungsi dari blok kayu atau embedding cassette adalah untuk memegang pada saat blok dipotong dengan mikrotom.

7. Sectioning (pemotongan menggunakan mikrotom)

- a. Blok parafin yang telah berisi jaringan, diiris menggunakan scalpel sehingga bagian yang akan diiris dengan pisau mikrotom berbentuk segiempat teratur. Preparat diletak ditengah, kira-kira 3-5 mm dari tepinya.
- b. Memasang holder dengan blok paraffin pada rotary mikrotom yang direkatkan.
- c. Menyiapkan tempat coupes atau pita preparat dan kuas kecil untuk mengambil coupes dari pisau mikrotom.
- d. Menentukan ketebalan sayatan dengan mengatur coupes mikrotom.
- e. Memasukkan preparat ke dalam nampan yang berisi air hangat. Hal tersebut dilakukan agar coupes dapat merentang dan jaringan tidak melipat.
- f. Menempelkan coupes pada kaca benda (pada proses affixing) yang sebelumnya telah diolesi dengan albumin.

8. Affixing

- a. Meletakkan sejumlah coupes (irisian tengah pita preparat) pada kaca benda yang telah diberi perekat dengan gliserin dan albumin.
- b. Memindahkan kaca benda yang berisi coupes tersebut keatas hot plate dengan suhu (40-45°C). Adanya kelebihan air dihisap dengan menggunakan kertas saring, dan mengarur letak coupes dengan merentangkan parafinnya.

9. Pewarnaan menggunakan Hematoxylin-Eosin

- a. Mencilupkan kaca benda yang telah ditemplei coupes ke dalam xylol secara berulang yaitu :
 - Xylol (I) selama 5 menit
 - Xylol (II) selama 5 menit
 - Xylol (III) selama 5 menit.
- b. Melakukan dehidrasi berulang yakni:
 - Alkohol absolut (I) selama 5 menit
 - Alkohol absolut (II) selama 5 menit
- c. Mencilupkan coupes di dalam aquades selama 1 menit
- d. Mencilupkan coupes kedalam Harris-Hematoxylin selama 20 menit
- e. Mencilupkan coupes kedalam aquadest selama 1 menit
- f. Mencilupkan coupes kedalam alkohol sebanyak 2-3 celupan
- g. Mencilupkan coupes kedalam aquadest selama 1 menit
- h. Mencilupkan coupes kedalam aquadest selama 15 menit
- i. Kemudian mencilupkan coupes di dalam Eosin selama 2 menit

j. Melakukan dehidrasi berulang lagi yakni:

Alkohol 96% (I) selama 3 menit

Alkohol 96% (I) selama 3 menit

Alkohol absolut (III) selama 3 menit

Alkohol absolut (IV) selama 3 menit

k. Mecerupkan coupes di dalam Xylol yaitu :

Xylol (IV) selama 5 menit

Xylol (V) selama 5 menit

l. Memounting dengan permount.

10. Pengamatan struktur histologik

Preparat yang telah dibuat di amati dan dihitung dengan cara sampling dibawah mikroskop per satuan lapang pandang pada struktur penampang ovarium dengan perbesaran 10x10 dan diamati seluruh lapang pandang preparat histologik ovarium, kemudian dibandingkan antara preparat perlakuan dan kontrol. Pengambilan gambar preparat menggunakan optilab.

3.7 Rancangan Penelitian

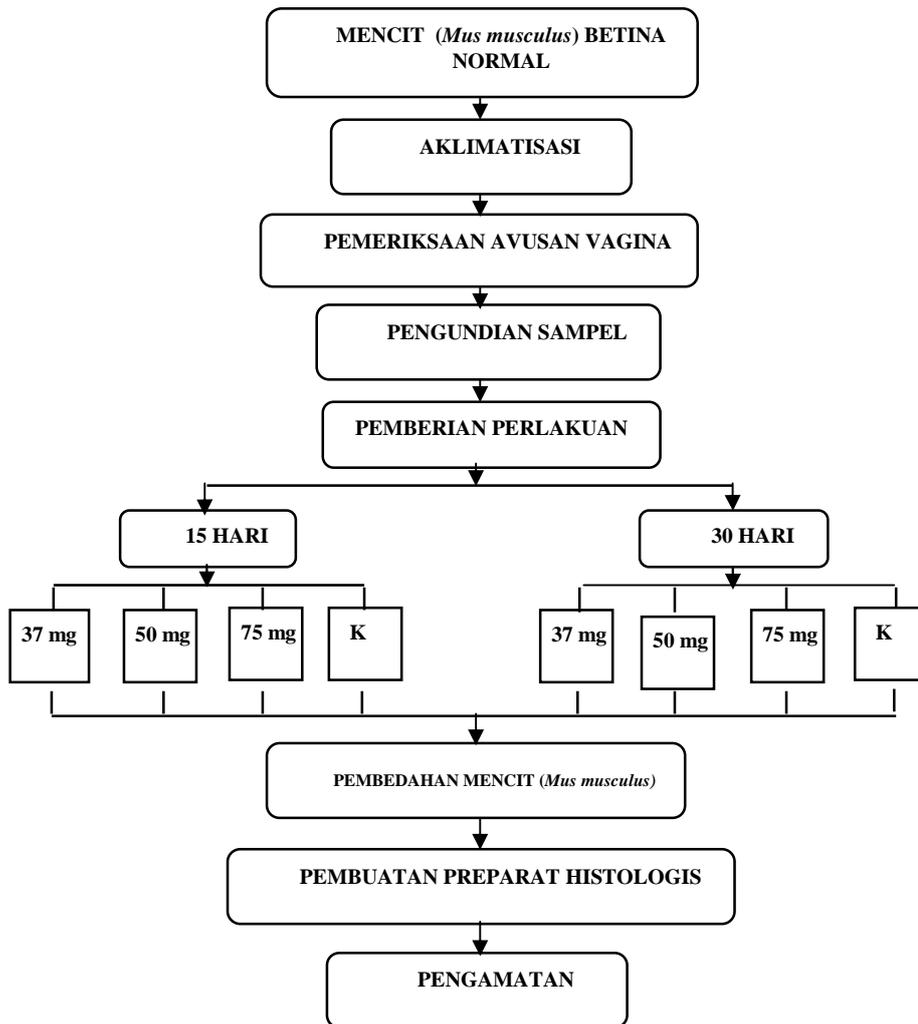
Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola faktorial. Faktor pertama adalah dosis ekstrak kacang merah dan faktor kedua adalah lama perlakuan. Ada 4 dosis ekstrak kacang merah yang dicobakan yaitu 0 mg/kg bb, 37 mg/kg bb, 50 mg/kg bb, dan 75mg/kg bb. Perlakuan-perlakuan tersebut masing-masing

diberikan selama 15 atau 30 hari berturut-turut sehingga diperoleh 8 kombinasi perlakuan. Setiap kombinasi perlakuan menggunakan 5 ekor mencit sehingga pada penelitian ini digunakan 40 ekor mencit. Kedelapan kombinasi perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

1. Kelompok I : Kontrol dengan pemberian aquades sebanyak 10 ml selama 15 hari.
2. Kelompok II : Perlakuan dengan dosis ekstrak kacang merah 37 mg/gr bb selama 15 hari.
3. Kelompok III : Perlakuan dengan dosis ekstrak kacang merah 50 mg/gr bb selama 15 hari.
4. Kelompok IV : Perlakuan dengan dosis ekstrak kacang merah 75 mg/gr bb selama 15 hari
5. Perlakuan V : Kontrol dengan pemberian aquades 10 ml selama 30 hari.
6. Kelompok VI : Perlakuan dengan dosis ekstrak kacang merah 37 mg/ gr bb selama 30 hari.
7. Kelompok VII : Perlakuan dengan dosis ekstrak kacang merah 50 mg/gr bb selama 30 hari.
8. Kelompok VIII : Perlakuan dengan dosis ekstrak kacang merah 75 mg/gr bb selama 30 hari.

Mencit yang sudah beradaptasi dengan lingkungan dipilih untuk mendapatkan keseragaman yaitu mencit yang mempunyai siklus estrus yang teratur/ normal 4-5 hari. Mencit kemudian ditimbang berat badannya dan dipilih mencit yang memiliki berat badan antara 25-30 gram. Selanjutnya mencit ditempatkan dalam

kandang sesuai dengan kelompok perlakuan yang diberikan. Setiap kelompok ditandai dengan menorehkan tinta spidol permanen yang berbeda warna pada punggung mencit. Warna merah untuk kelompok I, warna hijau untuk kelompok II, warna hitam untuk kelompok III, warna biru untuk kelompok IV, warna merah-hijau untuk kelompok V, warna merah-hitam untuk kelompok VI, warna merah-biru untuk kelompok VII, warna merah-kuning untuk kelompok VIII. Tanda untuk masing-masing ulangan diberikan dengan menambahkan warna garis ungu sejumlah ulangan yang dilakukan. Pembedahan dilakukan setelah selesai pemberian perlakuan yaitu pada hari ke-16 atau hari ke-31.



Gambar 3.1. Skema rancangan penelitian

3.8 Teknik Analisis Data

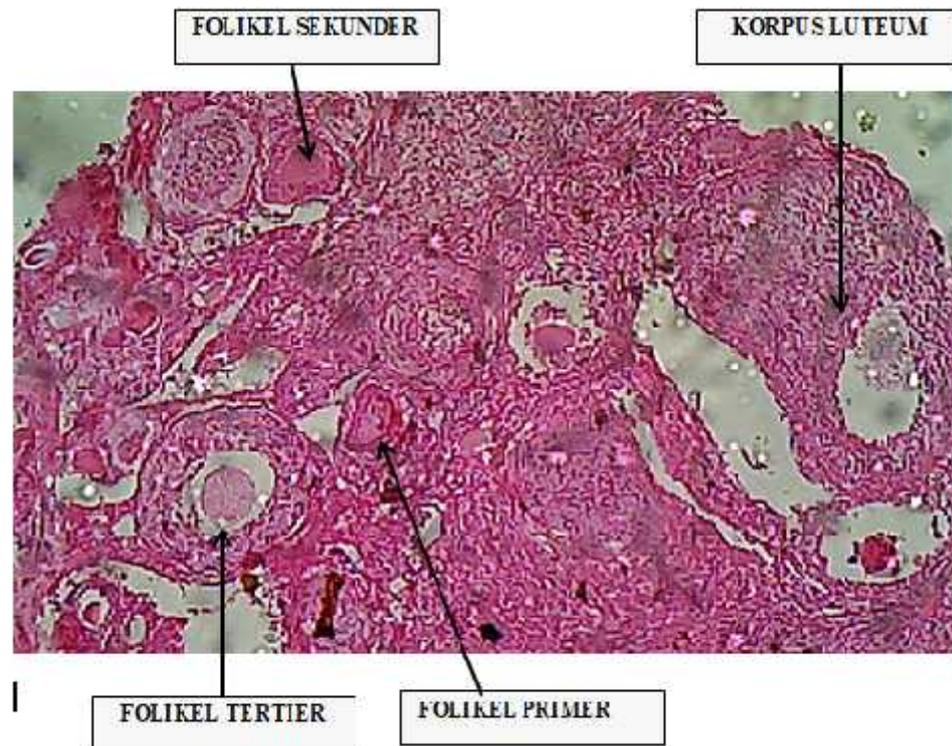
Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial. Menurut Suwanda (2015) desain faktorial merupakan desain yang paling efisien untuk menyelidiki efek dua faktor atau lebih, karena masing-masing pengamatan menyuplai informasi tentang semua faktor. Data penelitian dianalisis dengan Two Way Anova untuk mengetahui adanya pengaruh masing-masing variabel. Apabila nilai F_{hitung} lebih besar dari nilai F_{tabel} maka H_1 diterima. Apabila F_{hitung} lebih kecil daripada F_{tabel} maka H_1 ditolak.

Bila H_1 diterima maka analisis statistik dilanjutkan dengan uji DMRT (Duncan's Multiple Range Test) pada taraf kesalahan 5%. Uji DMRT untuk mengetahui jenis terbaik berdasarkan rankingnya. Uji DMRT memiliki nilai kritis yang tidak tunggal tetapi mengikuti urutan rata – rata yang dibandingkan. Nilai kritis uji DMRT dinyatakan dalam nilai least significant range. Perlakuan yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata pengaruhnya menurut DMRT 5%.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak kacang merah (*Phaseolus vulgaris, L.*) terhadap perkembangan folikel telur hewan uji yaitu mencit (*Mus musculus*) diambil berdasarkan data jumlah folikel telur yang diidapat dari pengamatan dan penghitungan folikel telur pada preparat histologis ovarium mencit (*Mus musculus*) secara mikroskopik dengan pembesaran 100x, menggunakan teknik pewarnaan Hematoxilin-Eosin (HE). Folikel-folikel yang diamati meliputi folikel primer, sekunder, tersier, de Graff, dan korpus luteum, yang dilihat masing-masing perkembanganya berdasarkan perbedaan jumlah folikel yang terbentuk akibat lama pemberian ekstrak kacang merah dan pemberian dosis ekstrak kacang merah yang berbeda. Gambar sayatan histologis ovarium yang memperlihatkan folikel telur pada berbagai tahap perkembangan disajikan dalam gambar 4.1. sedangkan data rata-rata total folikel pada berbagai kelompok perlakuan per satuan lapang pandang disajikan pada tabel 4.1. dan gambar 4.2.

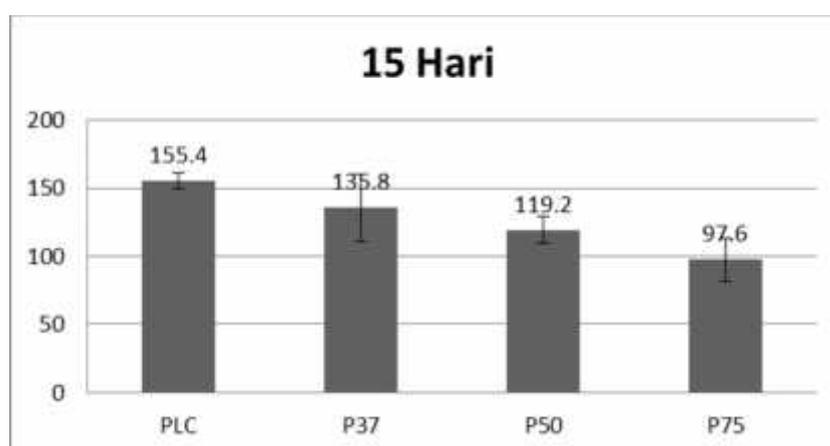


Gambar 4.1. preparat histologis ovarium mencit perbesaran 40 X 60.

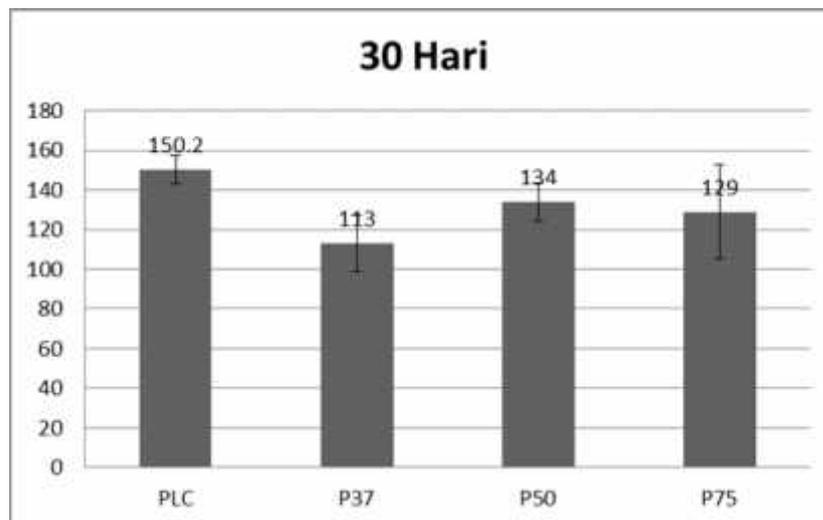
Gambar 4.1 menunjukkan berbagai fase pertumbuhan pada folikel telur hewan uji. Folikel-folikel tersebut diantaranya yaitu folikel primordial, folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, folikel de Graff, dan korpus luteum. Folikel primer ditandai dengan adanya satu lapis sel granulosa. Ukuran folikel primer biasanya yang paling kecil dari jenis folikel lainnya. Folikel primer sebenarnya hampir sama dengan folikel sekunder, hal yang membedakan yaitu ditandai dengan adanya dua lapis atau lebih sel granulosa. Folikel tersier merupakan tahap perkembangan lebih lanjut dari folikel sekunder, yang membedakan antara folikel tersier dan sekunder yaitu ditandai dengan adanya

celah yang telah berisi dengan cairan folikuler dikedua sisi luar oosit, bagian ini disebut sebagai antrum. Folikel de Graff ditandai dengan adanya celah yang telah berisi dengan cairan folikuler yang jauh lebih besar dibandingkan folikel tersier dan oosit yang terletak pada bagian tepi folikel yang dihubungkan dengan beberapa sel granulosa yang disebut korona radiata. Selain itu sel granulosa yang mengelilingi ovum jumlahnya semakin sedikit. Ukuran folikel de Graff biasanya besar, sehingga dapat lebih mudah diamati. Korpus luteum, merupakan merupakan ruang folikuler akan terisi dengan darah dan cairan limpa setelah terjadinya ovulasi. Biasanya berukuran besar dan berwarna merah.

Data hasil perhitungan rata-rata jumlah folikel telur hewan uji, diamati berdasarkan masing-masing jenis folikelnya, dengan cara menghitung jumlah keseluruhan folikel yang terdapat pada ovarium hewan uji. Data pada gambar 4.2 dan 4.3 menunjukkan jumlah rata-rata folikel telur.



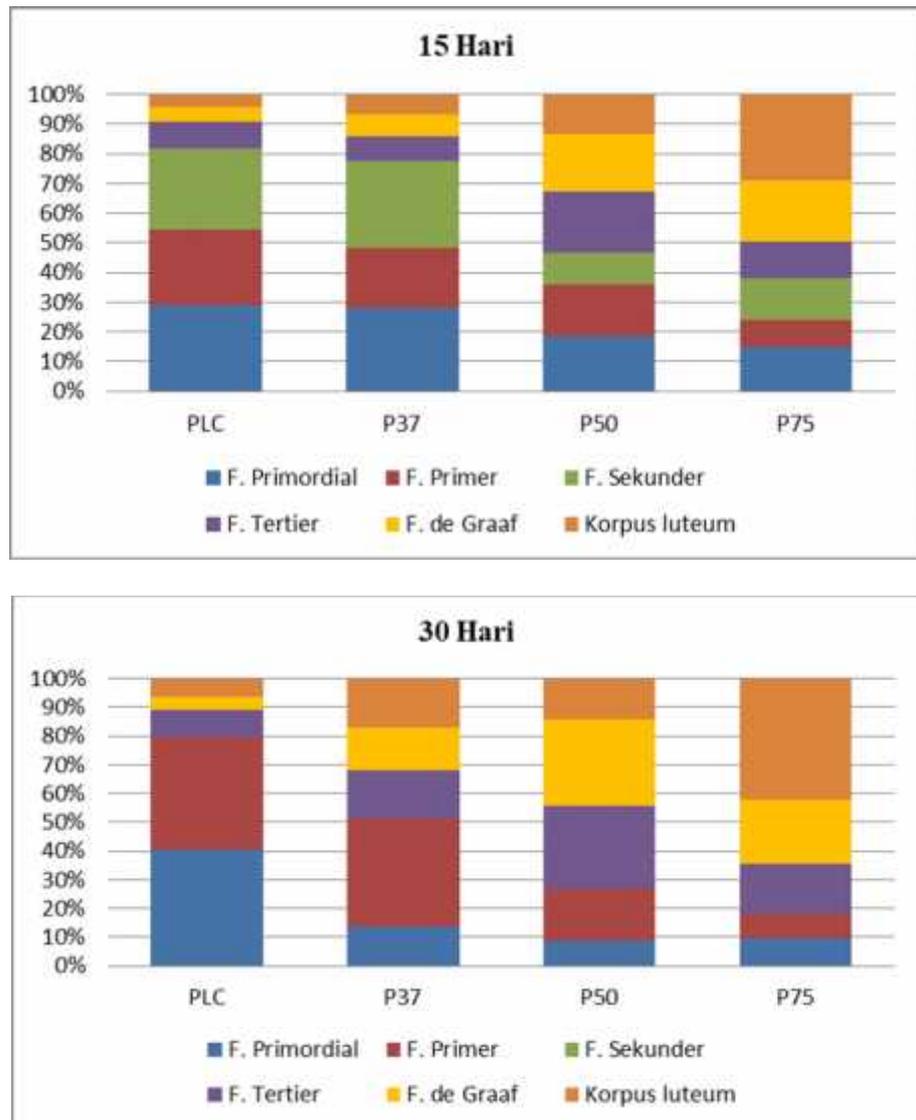
Gambar 4.2 Rata-rata jumlah folikel telur hewan uji yang diberi perlakuan selama 15 hari.



Gambar 4.3 Rata-rata jumlah folikel telur hewan uji yang diberi perlakuan selama 30 hari

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan jumlah rata-rata folikel telur hewan uji yang diberi perlakuan ekstrak kacang merah selama 15 hari. Kelompok PLC memiliki rata-rata folikel telur yang lebih banyak dibandingkan dengan kelompok yang diberikan perlakuan ekstrak kacang merah (gambar 4.3). Rata-rata folikel telur hewan uji juga mengalami penurunan secara berturut-turut dengan semakin tinggi dosis ekstrak kacang merah yang diberikan. Hal tersebut menunjukkan perlakuan ekstrak kacang merah menurunkan jumlah rata-rata folikel telur hewan uji.

Fenomena yang sama juga terjadi pada perlakuan ekstrak kacang merah yang diberi selama 30 hari. PLC memiliki jumlah rata-rata folikel yang paling banyak dibandingkan dengan perlakuan P37, P50, dan P75 (gambar 4.3). Rata-rata folikel telur yang paling sedikit terdapat pada P37, sedangkan untuk P50 dan P75 memiliki rata-rata folikel telur yang tidak jauh berbeda.



Gambar 4.4 Komposisi folikel ovarium mencit (*Mus musculus*) per satuan lapang pandang ($1,83 \times 10^6 \mu\text{m}^2$).

Hasil penelitian juga menunjukkan jumlah folikel telur menunjukkan bahwa hewan uji yang diberi perlakuan ekstrak kacang merah mempunyai persentase folikel tahap akhir (de Graaf dan korpus luteum) lebih tinggi dibandingkan PLC pada hari ke-15 (gambar 4.2). Kelompok PLC persentase folikel tahap akhir hanya sebesar 10%, sedangkan di P37, P50, dan P75 persentase folikel tahap akhir berurutan sebesar 15%, 28%, dan 50%. Semakin

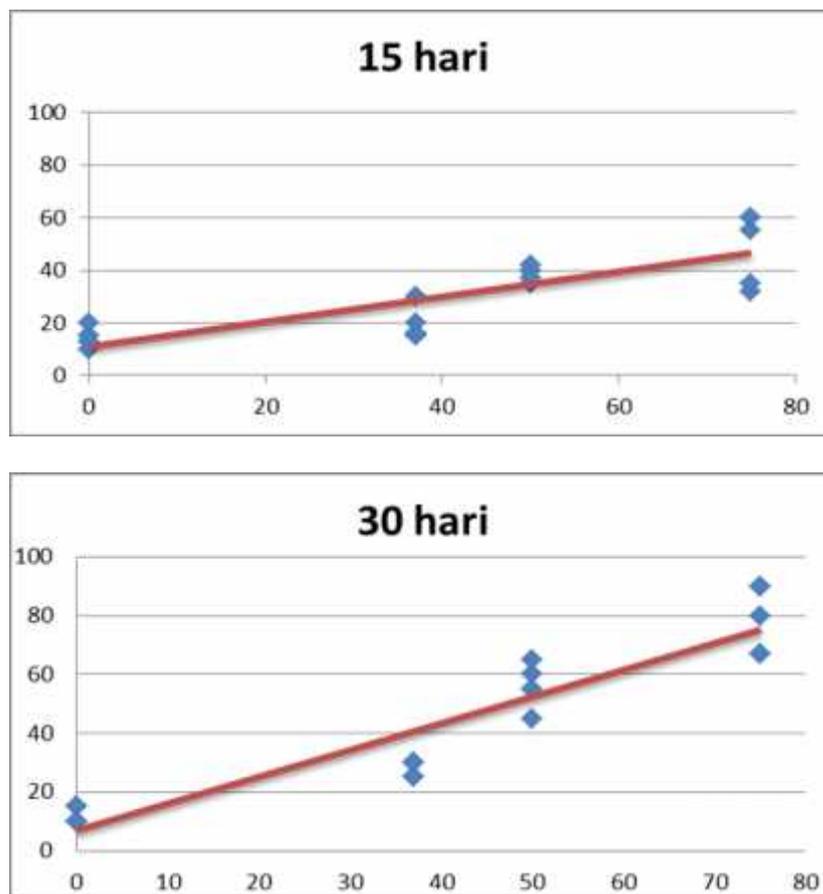
tinggi konsentrasi ekstrak kacang merah yang diberikan pada hewan uji maka semakin tinggi jumlah persentase folikel tahap akhir.

Fenomena yang sama juga terjadi pada perlakuan ekstrak kacang merah yang diberikan pada hewan uji selama 30 hari. Persentase folikel tahap akhir di PLC sebesar 11%. Besar persentase tersebut jauh lebih kecil dibandingkan dengan P37 sebesar 32%, P50 sebesar 45%, dan P75 sebesar 65%. Variasi besar persentase folikel tahap akhir pada masing-masing perlakuan juga menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak kacang merah yang diberikan maka semakin tinggi persentase jumlah folikel tahap akhir pada hewan uji.

Hal ini juga menunjukkan perbedaan persentase folikel tahap akhir pada lama pemberian ekstrak kacang merah. Hewan uji yang diberikan perlakuan ekstrak kacang merah selama 15 hari memiliki persentase folikel tahap akhir lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan ekstrak kacang merah selama 30 hari. Perlakuan ekstrak kacang merah selama 15 hari 5 kali mempercepat perkembangan folikel dibandingkan PLC. Perlakuan ekstrak kacang merah selama 30 hari 6 kali mempercepat perkembangan folikel. Hal tersebut menunjukkan semakin tinggi konsentrasi kacang merah maka semakin cepat perkembangan folikel pada hewan uji.

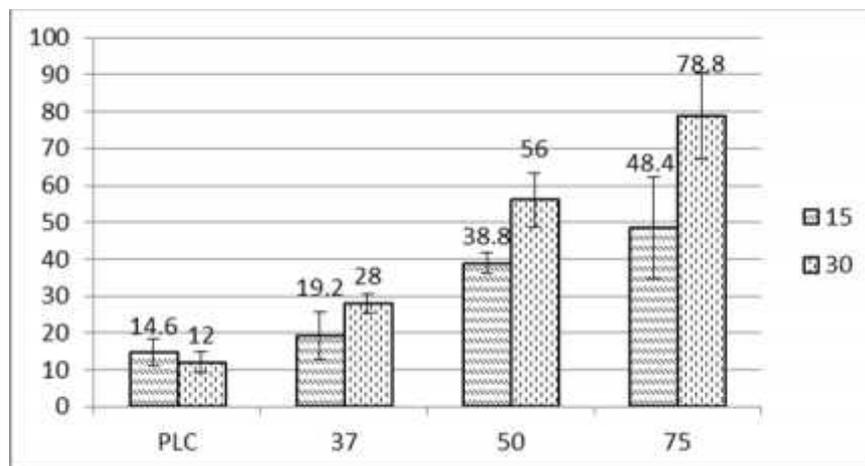
Hasil uji regresi pengaruh ekstrak kacang merah terhadap perkembangan folikel telur menunjukkan adanya pengaruh antara jumlah folikel dengan dosis ekstrak kacang merah (gambar 4.5). semakin tinggi dosis ekstrak kacang merah yang diberikan semakin tinggi pula jumlah folikel telur

tahap akhir. Hal tersebut berlaku juga untuk lama pemberian perlakuan yaitu lama perlakuan 30 hari memiliki jumlah folikel yang lebih tinggi dibandingkan 15 hari.



Gambar 4.5 Pengaruh ekstrak kacang merah terhadap folikel tahap akhir

Hasil analisis menggunakan two way annova menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat nyata terhadap jumlah rata-rata folikel tahap akhir (gambar 4.6). Perbedaan pemberian dosis ekstrak kacang merah memberikan pengaruh yang berbeda terhadap jumlah folikel tahap akhir. Hal tersebut berlaku juga untuk perbedaan lama perlakuan pada hewan uji.



Gambar 4.6 Perbedaan pengaruh dosis dan lama perlakuan ekstrak kacang merah terhadap perkembangan folikel tahap akhir

Berdasarkan analisis menggunakan two way annova, semakin tinggi dosis ekstrak kacang merah yang diberikan semakin tinggi pula jumlah rata-rata folikel tahap akhir (gambar 4.6). Hasil analisis juga menunjukkan adanya perbedaan jumlah rata-rata folikel telur hewan uji yang diberi perlakuan ekstrak kacang merah selama 15 hari dan 30 hari. Kelompok PLC memiliki rata-rata folikel telur yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok yang diberikan perlakuan ekstrak kacang merah (gambar 4.6). Rata-rata folikel telur tahap akhir hewan uji juga mengalami kenaikan dengan semakin tinggi dosis ekstrak kacang merah yang diberikan. Setelah dilakukan analisis menggunakan two way annova, maka selanjutnya dilakukan uji DMRT untuk mengetahui dosis dan lama perlakuan yang paling baik. Berdasarkan hasil uji DMRT didapatkan bahwa dosis ekstrak kacang merah yang paling baik adalah dosis 75 mg/kgbb ekstrak kacang merah dan lama pemberian ekstrak kacang merah yang paling baik adalah 30 hari.

BAB V

PEMBAHASAN

Folikel primordial merupakan folikel yang dikelilingi oleh selapis sel granulosa yang berbentuk pipih dan memiliki ukuran yang paling kecil dibandingkan dengan folikel lainnya. Sel-sel granulosa diyakini berfungsi memberi nutrisi untuk ovum dan untuk mensekresi suatu faktor penghambat oosit yang membuat ovum tetap tertahan dalam keadaan primordial dalam fase profase pembelahan meiosis. Setelah pubertas bila FSH dan LH dari kelenjar hipofisis bagian anterior mulai disekresikan dalam jumlah yang cukup, seluruh ovarium bersama dengan folikelnya akan tumbuh (Ganong, 2006)

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa semua kombinasi perlakuan kecuali perlakuan P1(15) berbeda nyata dengan PLC(30) (kontrol). Hal ini serupa dengan yang terjadi pada hasil analisis statistika terhadap jumlah folikel primer dan jumlah folikel sekunder. Hal ini berarti bahwa perlakuan ekstrak kacang merah secara umum menyebabkan turunnya jumlah folikel primordial, jumlah folikel primer dan jumlah folikel sekunder. Penurunan-penurunan tersebut kemungkinan disebabkan oleh efek phytoestrogen yang terkandung dalam ekstrak kacang merah yang digunakan sebagai perlakuan dalam penelitian ini.

Menurut Mastuti (2012) ekstrak kacang merah mengandung senyawa fitoestrogen jenis isoflavon. Menurut USDA (2015) kandungan isoflavon pada kacang merah terdiri dari genistein, daidzein, dan coumestan. Saat berada di saluran cerna, isoflavon dikonversi secara enzimatik menjadi

fenol heterosiklik. Struktur fenol heterosiklik mirip dengan estrogen (Setchell dkk., 1984). Genistein juga mengalami metabolisme dalam saluran cerna menjadi komponen pethylphenol, sementara itu daidzein juga dirubah secara enzimatis menjadi equol, dihydrodaidzein, serta O desmethylangiolensin (O-DMA) (Murkies dkk, 1998). Menurut Oilis (1962) dalam Pawiroharsono (2007) genistein dan daidzein merupakan senyawa isoflavon yang aktivitas estrogeniknya lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa isoflavon lainnya. Aktivitas estrogenik tersebut terkait dengan struktur isoflavon yang dapat ditransformasikan menjadi equol, dimana equol mempunyai struktur fenolik yang mirip dengan hormon estrogen.

Ketika kadar estrogen endogen rendah maka fitoestrogen bersifat agonis sehingga fitoestrogen mengikat estrogen reseptor- (ER-) dan mengubah respon sel granulosa dengan cara mempengaruhi transkripsi gen yang spesifik untuk membentuk mRNA. mRNA berdifusi kedalam sitoplasma dan memicu proses translasi diribosom untuk membentuk protein baru. Protein tersebut memicu sel granulosa membentuk reseptor FSH yang lebih banyak. Keadaan tersebut menyebabkan suatu umpan balik positif karena estrogen membuat sel-sel granulosa lebih sensitif terhadap FSH. Hal ini menyebabkan perkembangan folikel primordial lebih cepat sehingga setelah penambahan ekstrak kacang merah terjadi penurunan jumlah folikel primordial, jumlah folikel primer, dan jumlah folikel sekunder (Whitten dan Patisaul, 2001).

Folikel tersier merupakan tahap perkembangan lebih lanjut dari folikel sekunder. Perbedaan antara folikel tersier dan sekunder yaitu folikel tersier ditandai dengan adanya celah yang telah berisi dengan cairan folikuler yang membuat ukurannya menjadi lebih besar. Biasanya celah yang berisi cairan folikel ini terbagi menjadi dua bagian yang dipisahkan oleh ovum. Hal inilah yang membedakan folikel tersier dengan folikel de Graff.

FSH yang disekresikan oleh hipofisis anterior diangkut menuju ovarium dan berikatan dengan reseptor pada membran plasma. Ikatan antara FSH dan reseptor akan memungkinkan terangkainya reseptor pada *protein G stimulator* yang menstimulasi enzim adenilil siklase. Adenilil siklase adalah suatu enzim yang terikat pada membran, oleh protein G akan mengkatalisis konversi sejumlah kecil *adenosin trifosfat* (ATP) sitoplasma menjadi cAMP didalam sel (Ganong, 2006). Protein kinase yang berikatan dengan cAMP selanjutnya teraktivasi yang memfosforilasikan protein spesifik didalam folikel.

Peningkatan kadar cAMP memicu sekresi estrogen di dalam folikel telur dengan memacu aktifitas enzim aromatase didalam sel yang mengkatalisis sintesis estrogen. Sel granulosa folikel primordial mulai membentuk reseptor estrogen yang berikatan dengan estrogen membentuk *Estrogen Reseptor Element* (ERE). Kompleks ERE dan estrogen berdifusi kedalam nukleus dan menempel pada bagian promotor dari untai DNA spesifik sehingga mempengaruhi proses sintesis protein yang terjadi di folikel sekunder.

Sel granulosa folikel sekunder mengalami proliferasi yang sangat cepat menyebabkan lebih banyak lapisan sel granulosa pada sel-sel tersebut. Selain itu, sel-sel berbentuk kumparan yang dihasilkan dari interstisium ovarium berkumpul dalam beberapa lapisan diluar sel granulosa membentuk massa sel kedua yang disebut *teka*. Teka terbagi menjadi dua lapisan yaitu teka interna dan teka eksterna (Ganong, 2006). Karakteristik teka interna mirip dengan sel-sel granulosa dan mampu menyekresi hormone steroid seks tambahan (estrogen dan progesteron). Teka eksterna berkembang menjadi kapsul jaringan ikat yang sangat vascular. Kapsul ini akan menjadi kapsul dari folikel yang sedang tumbuh. Massa sel granulosa mensekresikan cairan folikular yang kadar estrogennya tinggi. Pengumpulan cairan ini menyebabkan terbentuknya *antrum* di dalam massa sel granulosa. FSH dan estrogen bersinergi memacu sintesis reseptor LH sel-sel granulosa sehingga sel-sel granulosa semakin sensitive terhadap kehadiran LH. Hal tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan kecepatan sekresi folikular (Ganong, 2006).

Fitoestrogen diduga menyebabkan pertumbuhan folikel bertambah cepat dengan mempengaruhi sekresi FSH dan sekresi estrogen dari ovarium. Konsentrasi tinggi kedua hormon tersebut menyebabkan peningkatan kecepatan perkembangan folikel tertier. Semakin tinggi dosis yang diberikan semakin tinggi pula kadar isoflavon didalam tubuh hewan uji. Isoflavon bersifat agonis terhadap estrogen dengan membantu estrogen berikatan dengan reseptornya, sehingga dosis ekstrak kacang merah yang tinggi akan mempercepat perkembangan folikel telur (Mastuti, 2012).

Folikel de Graff ditandai dengan adanya celah yang telah berisi dengan cairan folikuler yang jauh lebih besar dibandingkan folikel tersier, sedangkan ovum terdesak ke bagian tepi folikel yang dihubungkan dengan beberapa sel granulosa. Selain itu sel granulosa yang mengelilingi ovum jumlahnya semakin sedikit. Sel-sel ini disebut korona radiata. Ukuran folikel de Graff biasanya sangat besar.

Peningkatan kadar estrogen dalam folikel serta bertambahnya kadar LH menyebabkan terjadinya proliferasi sel-sel teka folikular dan sekresinya. Hal tersebut menyebabkan diameter folikel bertambah sehingga terjadi peningkatan massa hingga seribu kali lipat dibandingkan dengan diameter folikel primordial. Ketika folikel membesar, ovum sendiri tetap tertanam didalam massa sel granulosa yang terletak pada katup folikel.

Fitoestrogen menyebabkan pematangan folikel bertambah cepat dengan mempengaruhi kecepatan sekresi estrogen. Konsentrasitinggi hormon tersebut memberikan umpan balik positif terhadap sekresi LH, sehingga pematangan folikel telur menjadi cepat. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka akan semakin tinggi pula kadar isoflavon di dalam tubuh mencit. Fitoestrogen bersifat agonis terhadap estrogen dengan membantu estrogen untuk berikatan dengan resptornya, sehingga dosis ekstrak kacang merah yang tinggi akan mempercepat pematangan folikel telur.

Menurut Patisaul dan Jefferson (2010) isoflavon yang kerjanya menyerupai estrogen endogen kemungkinan memberikan pengaruh umpan balik positif terhadap sekresi LH, sehingga kadar LH meningkat. Menurut

Ganong (2006) hal ini memacu sintesis dan sekresi progesterone Teka eksterna mulai melepaskan enzim proteolitik dari lisosom. Enzim tersebut mengakibatkan terjadinya pelarutan dinding kapsul folikular sehingga dinding tersebut melemah dan menyebabkan makin membengkaknya seluruh folikel dan degenerasi stigma Secara bersamaan akan terjadi pertumbuhan pembuluh darah baru yang berlangsung cepat kedalam dinding folikel, dan pada saat yang sama prostaglandin (hormon yang mengakibatkan vasodilatasi) akan disekresi kedalam jaringan folikular. Kedua efek ini akan mengakibatkan transudasi plasma ke dalam folikel yang berperan pada pembengkakan folikel. Akhirnya, kombinasi dari pembengkakan folikel dan degenerasi stigma mengakibatkan pecahnya folikel disertai dengan pengeluaran ovum.

Folikel yang telah mengalami ovulasi akan meninggalkan sel-sel granulosa dan dan teka interna yang berubah dengan cepat menjadi sel lutein. Diameter sel ini membesar dua kali atau lebih dan terisi dengan inklusi lipid yang memberi tampilan kekuningan. Proses tersebut dinamakan luteinisasi, dan seluruh massa dari sel bersama-sama disebut sebagai korpus luteum (Seeley, 2010)

Berdasarkan pembahasan diatas, fitoestrogen mempengaruhi ovulasi dan perkembangan korpus luteum, sehingga kadar tinggi fitoestrogen didalam ovarium akan memberikan pengaruh yang signifikan pada proses ovulasi. Folikel telur yang telah matang akan mengalami peningkatan kecepatan ovulasi sehingga berdampak pada peningkatan jumlah korpus luteum juga. Hal tersebut sesuai dengan data pada penelitian ini.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

6.1.1 Perlakuan ekstrak kacang merah berpengaruh nyata terhadap kecepatan perkembangan folikel telur mencit. Semakin tinggi dosis perlakuan semakin besar pengaruhnya terhadap kecepatan perkembangan folikel telur.

6.1.2 Lama pemberian ekstrak kacang merah memberikan berpengaruh nyata terhadap perkembangan folikel telur mencit. Semakin lama pemberian perlakuan semakin besar pengaruhnya terhadap perkembangan folikel telur.

6.1.3 Ada interaksi antara dosis dengan lama perlakuan ekstrak kacang merah terhadap kecepatan perkembangan telur.

6.2 Saran

6.2.1 Diharapkan untuk peneliti selanjutnya meneliti mengenai organ-organ lain yang dipengaruhi oleh kandungan ekstrak kacang merah.

6.2.2 Untuk peneliti selanjutnya diharapkan dapat membuat preparat histologis ovarium yang lebih bagus.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelina, R., Supriyati, M.D., Nawangsari, D.A., Jenie, R.I., dan Meiyanto, E. 2008. Citrus reticulata's Peels Modulate Blood Cholesterol Profile and Increase Bone Density of Ovariectomized Rats. *Indonesian Journal of Biotechnology*. 13(22):1092-1097.
- Adjuwana, N. 1989. *Teknik Spektroskopi dalam Analisis Biologi*. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB.
- Akbar, Budhi. 2010 *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas*. Adabia Press: Jakarta
- Amri, A.F. 2001. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Gedi (I) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Galur Wistar. *Skripsi*. Yogyakarta: Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY.
- Astawan, M. 2009. *Sehat dengan Hidangan Kacang & Biji-bijian*. Penebar Swadaya: Jakarta
- Barter, P. 2005. The Role of HDL-Cholesterol in Preventing Atherosclerotic Disease Eur Heart. *Suppl.* 7.
- Bellardin, B.L., Simao, V.A., Leite, G.A.A., Chuffa, L.G.A., dan Camargo, I.C.C. 2014. Dose-Dependent Effects and Reversibility of the Injuries Caused by Nandrolone Decanoate in Uterine Tissue and Fertility of Rats. *Article*. Birth Defects Research (Part B) 101:168–177 (2014).
- Benassayag, C., Perrot, A.M., and Ferre, F., 2002, Phytoestrogen as Modulators of Steroid Action in Target Cells J. Chromatogr. B. 777.
- Berry, S.D.K., Jobst, P.M., Ellis, S.E., Howard, R.D., Capuco, A.V., dan Akers, R.M. 2003. Mammary Epithelial Proliferation and Estrogen Receptor Expression in Prepubertal Heifers: Effects of Ovariectomy and Growth Hormone. *Journal of Dairy Science*. 86(6): 2098-2105
- Biben 2012. Fitoestrogen: Khasiat Terhadap Sistem Reproduksi, Non Reproduksi Dan Keamanan Penggunaanya. *Prosiding, Seminar Ilmiah Nasional Bandung Universitas Padjajaran*.
- Budhi, A. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Adabia Press: Jakarta.
- Cederroth, C.R., Zimmerman, C., dan Nef, S. 2007. Soy, Phytoestrogen and Their Impact on Reproductive Health. *Article*. Molecular and Cellular Endocrinology.

- Chen, X., Danes, C., Lowe, M., Thaddeus, W., Herliezek, dan Keyomarsi, K., 2008, Activation of The Estrogen-Signaling Pathway by p21 WAF1/CIPI in Estrogen Receptor-Negative Breast Cancer Cells, *J. Natl. CancerInst.*,92(17):1403-1413.
- Cooke, P.S., Buchanan, L.D., Lubahn, D.B., Cunha, G.R. 1998. Mechanism of estrogen action: lessons from the estrogen receptor knockout mouse. *Biol Reprod.* Vol. 59.
- Darmadi, D., Nurdiana, Eviana, N. 2011. Efek Ekstrak Kacang Tunggak terhadap Osteoblast dan Osteoklast pada Tikus dengan Ovariectomi. *Jurnal Kedokteran.* Brawijaya. Department of Health and Human Services.
- Departemen Kesehatan. 1992. *Komposisi Zat Gizi Kacang Merah.* Di akses pada tanggal 16 Januari 2017, jam 11:02 WITA di <http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=942>.
- Djamil, R. dan Tria A. 2009. Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Beberapa Spesies Papilionaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* (vol.7 nomor 2 tahun 2009).
- Duffy C, Perez K, dan Partridge A. 2007. Implications of Phytoestrogen Intake for Breast Cancer. *A Cancer Journal for Clinicians.* 57(5): 260-277.
- Elsevier. 2012. Studies in Natural Products Chemistry. *Elviser B.V* : British Foster, J.S., Henley, D.C., Ahamed, S., dan Wimalasena, J., 2001, Estrogen and Cell Cycle Regulation in Breast Cancer. *Trends in Endocrinology and Metabolism.* 12:7:320-327.
- Ganong, W. F. 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.* Edisi 22. Jakarta: EGC.
- Ganong, W. F. 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.* Edisi 22. Jakarta: EGC.
- Gilbert, S.F. 2000. *Developmental Biology 6th edition.* Sinauer Associates. USA.
- Gruber, J. Christian, Walter Tschugguel, Christian Scheneberger, Johannes C. Hubber. 2002. Production and Actions of Estrogens. *The New England Journal of Medicine.* Vol. 346.
- Hernawati. 2014. *Perbaikan Kinerja Reproduksi Akibat Pemberian Isoflavon dari Tanaman Kedelai.* Skripsi. Pendidikan Biologi, UPI.
- Hikmah, Exma M. 2014. Pengaruh Ekstrak Air Daun Katu (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) terhadap Berat Uterus dan Tebal Endometrium Mencit (*Mus musculus* L.) Premenopause. *Artikel.* Universitas Islam Negeri Maulana malik Ibrahim Malang.

- Houvel, V.S., 2005, Cell-cycle regulation, Worm Book, ed. The C. elegans Research Community. *Worm Book*. doi/10.1895/wormbook.1.28.1,
- Irianto, K. 2014. *Biologi Reproduksi*. Alfabeta. Bandung.
- Kay, D.E. 1979. *Food Legume*. London : Tropical Product Institute.
- Knight, D.C., dan Eden, J.A. 1996. A Review of the Clinical Effects of Phytoestrogens. *Obstet Gynecol*. 87(5 Pt 2): 897-904.
- Kaufman, P.B., Duke, J.A., Brielman, J.A. Boik, J., Hoyt, J.E. 1997. A Comparative Survey of Leguminous Plants as Sources of the Isoflavones, Genistein and Daidzein: Implications for Human Nutrition and Health. *Article*. The journal of alternative and complementary medicine.
- Leclereq, G., Heuson, J.C., Affinity of Estradiol Mustard for Estrogen Receptors and Its Enzymatic Degradation in Uterine and Breast Cancer Cystols. *Int. J. Cancer*. 18 (1976) 750-756.
- Lee, G.S., Hoe-Jin, K., Yong-Woo, J., Kyung-Chul, C., dan Eui-Bae, J., 2005. Estrogen Receptor Pathway is Involved in the Regulation of Calbindin-D9K in the Uterus of Immature Rats. *Toxicology Sciences*. 84(2):270-277.
- Mastuti, R.Q.D. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris*, L) terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*, L). *Artikel*. Yogyakarta: Jurusan Biologi FMIPA UNY.
- Matthews, J., dan Gustafsson, J. 2003. Estrogen signaling: a subtle balance between ER and ER . *Molecular Interventions*. 3: 281-292.
- Meiyanto, E. 2002. *Biologi Molekuler, Buku Ajar Proyek QUE*. Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Mostorm, M., dan Evans T.J. 2012. Phytoestrogen. *Article*. Copyright of Elsevier Inc.
- Murkies, A.L., Wilcox, G., dan Davis, R.S., 1998, Phytoestrogen. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 83(2):297-302.
- O'Brien, J.E., Peterson, T.J., Tong, M.H., Lee, E., Pfaff, L.E., dan Hewitt, S.C., 2006, Estrogen-induced Proliferation of Uterine Epithelial Cells Is Independent of Estrogen Receptor _ Binding to Classical Estrogen Response Elements. *JBC*. 26683–26692.
- O'lonc, R., Martin, C.F., Elinor, K.K., dan Ulla, H. 2004. Genomic Targets of Nuclear Estrogen Receptors. *Molecular Endocrinology*. 18 (8): 1859-1875.

- Patisaul, H.B., dan Whitten, P.L., 2000, Cross-Species and Interassay Comparisons of Phytoestrogen action, *Environ. Health Perspect.*, 109(Suppl.1):5-20.
- Patisaul, H.b., dan Jefferson, L. 2010. Selective Estrogen Receptor Modulators and Phytoestrogens. *Planta Med.* 74(13): 1656–1665.
- Pawiroharsono S. 2007. Artikel. *Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan*. Direktorat Teknologi Bioindustri, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi.
- Pearce, E.C., 2000. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*, 254-265, diterjemahkan oleh Handoyo, S.Y. Jakarta. PT Gramedia Pustaka Utama.
- Peterson, B.K., Duke, J.A., Brielman, J.A. Boik, J., Hoyt, J.E. 1997. Phytoestrogen-Rich Diet Increases Energy Expenditure and Decreases Adiposity in Mice. *Environmental Health Perspectives*. 115(10): 1467-1473.
- Ross, J.A., dan Kasum, C.M., 2002, Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects and Safety. *Annu.Rev.Nutr.*
- Rudini, M. 2015. *Efektivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Rimpang Pacing (Costus Speciosus) dan Taurin Terhadap Fertilitas Mencit Jantan (Mus Musculus) yang di Induksi Aloksan*. Tesis. Bandar Lampung: Program Pasca Sarjana Magister Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
- Ruggiero, J., dan Likis, F.E. 2002. Estrogen: Physiology, Pharmacology, and Formulations for Replacement Therapy. *J. Midwifery Womens Health*. 47(3): 130-138.
- Saltiki, K., dan Alevizaki, M., 2007, Coronary Heart Disease in Postmenopausal Women; the Role of Endogenous Estrogens and Their Receptors. *Hormones*. 6(1):9-24.
- Seeley, R.R., Stephens, T.D., Tate, P.2006. *Anatomy and Physiolog: The unity of form and function*. 3rd edition. Sinauer Associates. USA
- Sethell KDR, Aedin C. 1999. Dietary Isoflavones: biological effects and relevance to human health. *J. Nutr.* 129:758S-767S.
- Smith, J.B., dan Mangkoewidjojo, S. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Tikus Laboratorium (Rattus norvegicus)*: 3757. Penerbit Universitas Indonesia.

- Sunaryo, H., dan Rismunandar. 1984. Seri Produksi Hortikultura II: Kunci Bercocok Tanam Sayur-Sayuran Penting di Indonesia. Sinar Baru Offset : Bandung.
- Sutrisno, Soehartono, Arsana. 2010. Efek Genistein terhadap Ekpresi eNOS, BCL2 dan Apoptosis pada kultur sel endotel umbilikus (HUVECs) yang mengalami stres oksidatif. Laboratorium Obstetri dan Ginekologi FK UNAIR Surabaya.
- Suwanda. 2015. *Desain Eksperimen untuk Penelitian Ilmiah*. Alfabeta. Bandung.
- Szafran, H., dan Smielak-Korombel, W., 1998, The Role of Estrogens in Hormonal Regulation of Lipid Metabolism in Women. *Przegl Lek.*, 55(5):266-70.
- Teramoto, A, Ishida, J., Nakagawa, S., O gawara, H., Watanabe, S., Itoh, N., 1987. Genistein, A Spesific Inhibitor of Tyrosine-spesific Protein Kinases. *The Journal of Biological Chemistry*. 262(12): 5592-5595.
- USDA United State Department of Agriculture. 2015. *Phaseolus vulgaris* ,L. *Redbean* diakses pada tanggal 16 Januari 2017, jam 10.47 WITA dari <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=PHVU>
- Usui,T. 2006. Pharmaceutical Prospects of Phytoestrogens. *Endocrine Journal*.
- Whitten, P.L. dan H.B. Pattisaul, 2001. Cross-species dan interassay Comparison of Phytoestrogen Action. *Environmental Health Perspectives Supplements*. Volume 109. Departemen Anthropology and Center for Behavioural Neuroscience Emory University. Atlanta. Georgia USA.
- Wolf, A.S. 2000. Fitoestrogens Value and Significance During Menopause. *Menopause Andropause*. 51-59.

LAMPIRAN I

ANALISIS SIDIK RAGAM FOLIKEL PRIMORDIAL

	PLC	P1	P2	P3	TOTAL BARIS	KUADRAT PLC	KUADRAT P1	KUADRAT P2	KUADRAT PL3		K BARIS	K INTERAKSI	KUADRAT BARIS
	10	7	4	1	22	100	49	16	1	855.68	484	2025	14304.16
	9.6	8	4	1	22.6	92.16	64	16	1		510.76	1444	6855.84
	9	8	4	5	26	81	64	16	25		676	484	21160
	9	8	5	5	27	81	64	25	25		729	213.16	
	7.4	7	5	2.6	22	54.76	49	25	6.76		484		
JUMLAH	45	38	22	14.6	119.6								
	10	2	2.4	1.4	15.8	100	4	5.76	1.96	508	10000	1918.44	
	9	3	4	5	21	81	9	16	25		6561	144	
	8.4	3	2.4	5	18.8	70.56	9	5.76	25		4978.714	169	
	8.4	2	2.2	1.6	14.2	70.56	4	4.84	2.56		4978.714	196	
	8	2	2	1	13	64	4	4	1		4096		
	43.8	12	13	14	82.8								
TOTAL KOLOM	88.8	50	35	28.6	202.4					1363.68	33498.19	6593.6	
K KOLOM	7885.44	2500	1225	817.96	12428.4								

JKT	339.536
JKB	33.856
JKK	218.696
JK[BK]	42.024
JKG	44.96

KERAGAMAN	JUMLAH KUADRAT	DB	KUADRAT TENGAH	F HITUNG	F TABEL
NILAI TENGAH BARIS	33.8	1	33.8	24.1	4.1
NILAI TENGAH KOLOM	218.6	3	72.9	51.9	2.9
INTERAKSI	44.5	3	14.8	10.6	2.9
GALAT	44.9	32	1.4		
TOTAL	339.5	39	8.7		

LAMPIRAN II

ANALISIS SIDIK RAGAM FOLIKEL PRIMER

	PLC	P1	P2	P3	TOTAL BARIS	KUADRAT PLC	KUADRAT P1	KUADRAT P2	KUADRAT P3		K BARIS	K INTERAKSI	KUADRAT BARIS
	10	3	1	1.6	15.6	100	9	1	2.56	831.52	243.36	2500	11406.24
	10	2.2	8.4	1.8	22.4	100	4.84	70.56	3.24		501.76	761.76	19321
	10.8	5.4	6.2	2	24.4	116.64	29.16	38.44	4		595.36	424.36	30727.24
	9.2	8	4	2	23.2	84.64	64	16	4		538.24	73.96	
	10	9	1	1.2	21.2	100	81	1	1.44		449.44		
JUMLAH	50	27.6	20.6	8.6	106.8								
	10	9	8	5	32	100	81	64	25	1055	10000	1849	
	8	9	3	4	24	64	81	9	16		4096	1849	
	8	9	6	6	29	64	81	36	36		4096	900	
	9	9	5	5	28	81	81	25	25		6561	529	
	8	7	8	3	26	64	49	64	9		4096		
	43	43	30	23	139								
TOTAL KOLOM	93	70.6	50.6	31.6	245.8					1886.52	31177.16	8887.08	
K KOLOM	8649	4984.36	2560.36	998.56	17192.28								

JKT	376.079
JKB	25.921
JKK	208.787
JK[BK]	32.267
JKG	109.104

KERAGAMAN	JUMLAH KUADRAT	DB	KUADRAT TENGAH	F HITUNG	F TABEL	
					0.05	0.01
LAMA PERLAKUAN	14.4	1	14.4	3.0	4.1	7.5
KADAR DOSIS	287.0	3	95.7	20.2**	2.9	4.5
INTERAKSI	17	3	5.7	1.2	2.9	4.5
GALAT	151.2	32	4.7			
TOTAL	469.6	39	12.0			

LAMPIRAN III

ANALISIS SIDIK RAGAM FOLIKEL SEKUNDER

	PLC	P1	P2	P3	TOTAL BARIS	KUADRAT PLC	KUADRAT P1	KUADRAT P2	KUADRAT P3		K BARIS	K INTERAKSI	KUADRAT BARIS
	11	8	1	3	23	121	64	1	9	803.84	529	1936	12276.64
	9	8	2.8	4	23.8	81	64	7.84	16		566.44	1600	6625.96
	8	8	4	5	25	64	64	16	25		625	163.84	18902.6
	8	8	3	1	20	64	64	9	1		400	196	
	8	8	2	1	19	64	64	4	1		361		
JUMLAH	44	40	12.8	14	110.8								
	8.4	8	1	1	18.4	70.56	64	1	1	527.56	4978.714	1713.96	
	8	7	3	1	19	64	49	9	1		4096	625	
	8	6	2	1	17	64	36	4	1		4096	64	
	9	2	1	2	14	81	4	1	4		6561	49	
	8	2	1	2	13	64	4	1	4		4096		
	41.4	25	8	7	81.4								
TOTAL KOLOM	85.4	65	20.8	21	192.2					1331.4	26309.15	6347.8	
K KOLOM	7293.16	4225	432.64	441	12391.8								

JKT	407.879
JKB	21.609
JKK	315.659
JK[BK]	8.771
JKG	61.84

KERAGAMAN	JUMLAH KUADRAT	DB	KUADRAT TENGAH	F HITUNG	F TABEL	
					0.05	0.01
LAMA PERLAKUAN	27.2	1	27.2	6.1*	4.1	7.5
KADAR DOSIS	188.8	3	62.9	14.1**	2.9	4.5
INTERAKSI	9.6	3	3.2	0.7	2.9	4.5
GALAT	143	32	4.5			
TOTAL	369	39	9.5			

LAMPIRAN IV

ANALISIS SIDIK RAGAM FOLIKEL TERTIER

	PLC	P1	P2	P3	TOTAL BARIS	KUADRAT PLC	KUADRAT P1	KUADRAT P2	KUADRAT P3	TOTAL	K BARIS	K INTERAKSI	KUADRAT BARIS
	4	1	8	1	14	16	1	64	1	256	196	196	3844
	4	1	3	2	10	16	1	9	4		100	121	6724
	2	3	3	1	9	4	9	9	1		81	625	10568
	2	3	5	3	13	4	9	25	9		169	144	
	2	3	6	5	16	4	9	36	25		256		
JUMLAH	14	11	25	12	62								
	2	3	8	2	15	4	9	64	4	436	16	100	
	2	3	5	3	13	4	9	25	9		16	225	
	2	3	6	4	15	4	9	36	16		16	1296	
	2	3	9	6	20	4	9	81	36		16	441	
	2	3	8	6	19	4	9	64	36		16		
	10	15	36	21	82								
TOTAL KOLOM	24	26	61	33	144					692	882	3148	
K KOLOM	576	676	3721	1089	6062								

JKT	173.6
JKB	10
JKK	87.8
JK[BK]	13.4
JKG	62.4

KERAGAMAN	JUMLAH KUADRAT	DB	KUADRAT TENGAH	F HITUNG	F TABEL	
					0.05	0.01
LAMA PERLAKUAN	27.2	1	27.2	40.3**	4.1	7.5
KADAR DOSIS	162.2	3	54.1	80.1**	2.9	4.5
INTERAKSI	17.2	3	5.7	8.5*	2.9	4.5
GALAT	21.6	32	0.7			
TOTAL	228.4	39	5.9			

LAMPIRAN V
ANALISIS SIDIK RAGAM FOLIKEL DE GRAAF

	PLC	P1	P2	P3	TOTAL BARIS	KUADRAT					K BARIS	K INTERAKSI	KUADRAT BARIS
	1	2.2	5	4	12.2	1	4.84	25	16	223.84	148.84	64	3745.44
	1	1	5	4	11	1	1	25	16		121	104.04	6889
	2	2	4	4	12	4	4	16	16		144	529	10634.44
	2	2	5	4	13	4	4	25	16		169	400	
	2	3	4	4	13	4	9	16	16		169		
JUMLAH	8	10.2	23	20	61.2								
	1	2	5	4	12	1	4	25	16	489	1	25	
	1	2	7	5	15	1	4	49	25		1	169	
	1	3	9	6	19	1	9	81	36		1	1444	
	1	3	8	6	18	1	9	64	36		1	729	
	1	3	9	6	19	1	9	81	36		1		
	5	13	38	27	83								
TOTAL KOLOM	13	23.2	61	47	144.2					712.84	756.84	3464.04	
K KOLOM	169	538.24	3721	2209	6637.24								

JKT	192.999
JKB	11.881
JKK	143.883
JK[BK]	17.203
JKG	20.032

KERAGAMAN	JUMLAH KUADRAT	DB	KUADRAT TENGAH	F HITUNG	F TABEL	
					0.05	0.01
LAMA PERLAKUAN	24.0	1	24	71.1**	4.1	7.5
KADAR DOSIS	60.9	3	20.3	60.1**	2.9	4.5
INTERAKSI	14	3	4.7	13.8**	2.9	4.5
GALAT	10.8	32	0.34			
TOTAL	109.8	39	2.8			

LAMPIRAN VI
ANALISIS SIDIK RAGAM KORPUS LUTEUM

	PLC	P1	P2	P3	TOTAL BARIS	KUADRAT					K BARIS	K INTERAKSI	KUADRAT BARIS
	1.6	1	3	7	12.6	2.56	1	9	49	272.44	158.76	43.56	3576.04
	1	2	2	2.4	7.4	1	4	4	5.76		54.76	81	8427.24
	1	1	4	3	9	1	1	16	9		81	249.64	12003.28
	1	2	3.4	8	14.4	1	4	11.56	64		207.36	806.56	
	2	3	3.4	8	16.4	4	9	11.56	64		268.96		
JUMLAH	6.6	9	15.8	28.4	59.8								
	1	3	4	9.4	17.4	1	9	16	88.36	668.92	1	49	
	1	3	4	8.4	16.4	1	9	16	70.56		1	225	
	1	3	4	10	18	1	9	16	100		1	324	
	2	3	3	12	20	4	9	9	144		16	2683.24	
	2	3	3	12	20	4	9	9	144		16		
	7	15	18	51.8	91.8								
TOTAL KOLOM	13.6	24	33.8	80.2	151.6					941.36	805.84	4462	
K KOLOM	184.96	576	1142.44	6432.04	8335.44								

JKT	366.796
JKB	25.6
JKK	258.98
JK[BK]	33.256
JKG	48.96

KERAGAMAN	JUMLAH KUADRAT	DB	KUADRAT TENGAH	F HITUNG	F TABEL	
					0.05	0.01
LAMA PERLAKUAN	12.1	1	12.1	22.5**	4.1	7.5
KADAR DOSIS	52.1	3	17.4	32.3**	2.9	4.5
INTERAKSI	8.5	3	2.8	5.3*	2.9	4.5
GALAT	17.2	32	0.54			
TOTAL	90	39	2.3			

LAMPIRAN VII

ANALISIS SIDIK RAGAM FOLIKEL TAHAP AKHIR

Anova: Two-Factor With Replication

SUMMARY	15 H	30H	Total
<i>0</i>			
Count	5	5	10
Sum	73	60	133
Average	14.6	12	13.3
Variance	13.3	7.5	11.12222
<i>37</i>			
Count	5	5	10
Sum	96	140	236
Average	19.2	28	23.6
Variance	40.7	7.5	42.93333
<i>50</i>			
Count	5	5	10
Sum	194	280	474
Average	38.8	56	47.4
Variance	7.7	55	110.0444
<i>75</i>			
Count	5	5	10
Sum	242	394	636
Average	48.4	78.8	63.6
Variance	190.3	132.7	400.2667
<i>Total</i>			
Count	20	20	

Sum	605	874
Average	30.25	43.7
Variance	255.5658	736.0105

ANOVA

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Sample	15569.68	3	5189.892	91.31105	9E-16	2.90112
Columns	1809.025	1	1809.025	31.82802	3.07E-06	4.149097
Interaction	1451.475	3	483.825	8.512426	0.000267	2.90112
Within	1818.8	32	56.8375			
Total	20648.98	39				

LAMPIRAN VIII

Uji DMRT pengaruh perlakuan ekstrak kacang merah terhadap jumlah foli­ke de Graff.

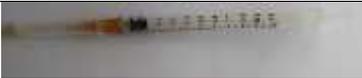
PERLAKUAN	RATA-RATA	DMRT	RATA-RATA+DMRT
PLC(15)	1.32 ^a	1.57	2.89
PLC(30)	1.4 ^{ab}	1.65	3.05
P1(15)	1.8 ^{abc}	1.7	3.5
P1(30)	3 ^{cd}	1.74	4.74
P2(15)	3.16 ^{cd}	1.77	4.93
P2(30)	3.6 ^{de}	1.79	5.39
P3(15)	5.68 ^f	1.81	7.49
P3(30)	10.36 ^g	1.82	12.18

Keterangan: Angka-angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda, secara statistika berbeda

PLC (15) : Placebo 15 hari; P1(15): dosis 37 mg/kg.bb selama 15 hari.; P2(15): dosis 50 mg/kg.bb selama 15 hari.; P3(15): dosis 75 mg/kg.bb. selama 15 hari.; PLC(30): Placebo 30 hari.; P1(30): dosis 37 mg/kg.bb selama 30 hari.; P2(30): dosis 50 mg/kg.bb selama 30 hari.; P3(30): dosis 75 mg/kg.bb. selama 30 hari.

LAMPIRAN IX

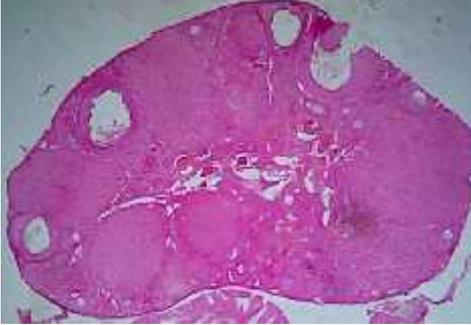
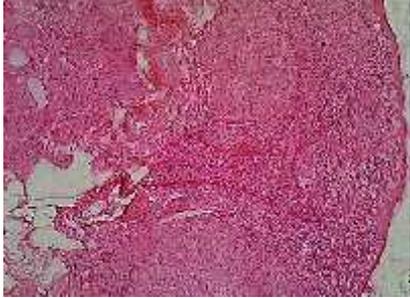
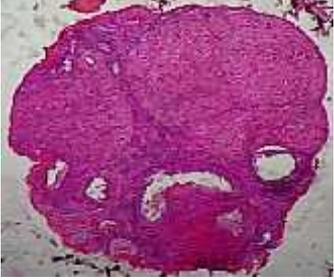
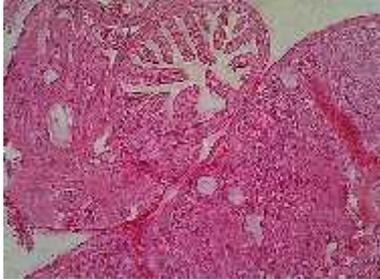
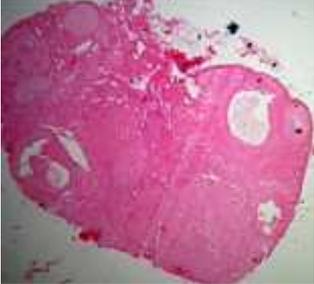
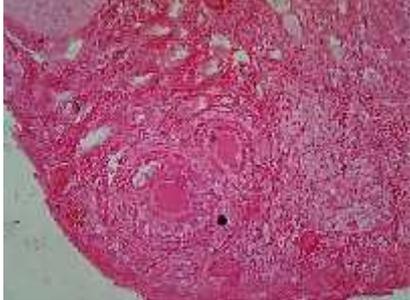
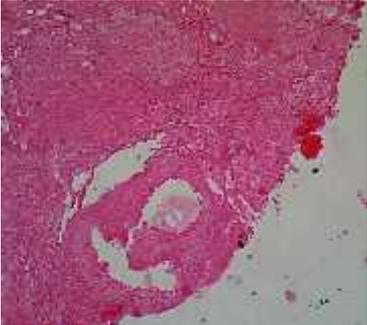
Gambar alat dan bahan penelitian

		
Alkohol 96%	Aquades	Dispenser
		
Jarum sonde	Jarum sonde	
		
Cetakan	Parafin : Xylol	Parafin : Xylol
		
Aklimatisasi Mencit	Mencit Perlakuan	Mencit Perlakuan
		
Maserasi kacang merah	Maserasi kacang merah	Penyaringan

 <p>Hasil perendaman kacang merah</p>	 <p>Ekstrak kacang merah</p>	 <p>Pemanasan ekstrak kacang merah menjadi pasta</p>
 <p>Pemberian perlakuan</p>	 <p>Pembedahan hewan coba</p>	 <p>Larutan fiksatif</p>
 <p>Proses dehidrasi organ</p>	 <p>Proses dehidrasi organ</p>	 <p>Proses dehidrasi organ</p>
 <p>Proses dehidrasi organ</p>	 <p>Proses dehidrasi organ</p>	 <p>Proses dehidrasi organ</p>
 <p>Parafinisasi</p>	 <p>Pewarna dalam pembuatan preparat</p>	

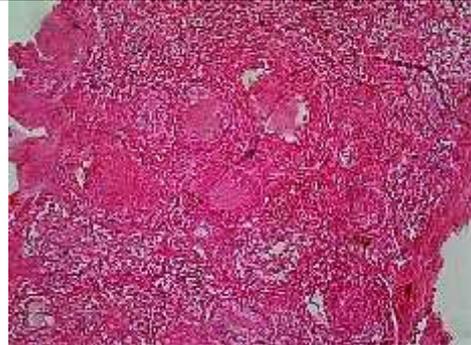
LAMPIRAN X

Gambar preparat histologis

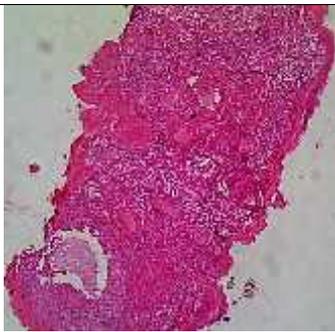
 <p>PLC (15) (Perbesaran 10X10)</p>	 <p>PLC (15) (Perbesaran 10X60)</p>
 <p>PLC (30) (Perbesaran 10X10)</p>	 <p>PLC (30) (Perbesaran 10X60)</p>
 <p>P1 (15) (Perbesaran 10X10)</p>	 <p>P1 (15) (Perbesaran 10X60)</p>
 <p>P1 (30) (Perbesaran 10X10)</p>	 <p>P1 (30) (Perbesaran 10X60)</p>



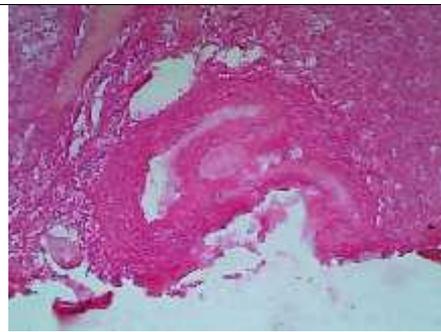
P2 (15) (Perbesaran 10X10)



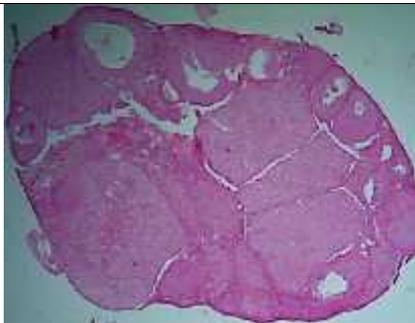
P2 (15) (Perbesaran 10X60)



P2 (30) (Perbesaran 10X10)



P2 (30) (Perbesaran 10X60)



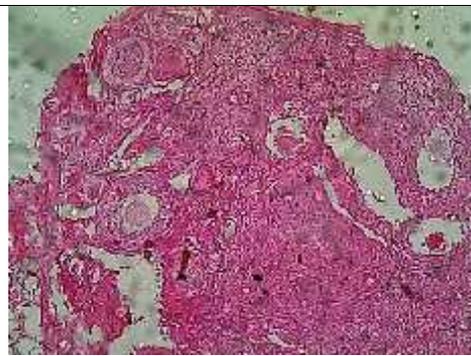
P3 (15) (Perbesaran 10X10)



P3 (15) (Perbesaran 10X60)



P3 (30) (Perbesaran 10X10)



P3 (30) (Perbesaran 10X60)