

repository.ub.ac.id

PENGARUH EKSTRAK KACANG TUNGGAK (*Vigna unguiculata*) TERHADAP KETEBALAN ENDOMETRIUM TIKUS GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus*) DENGAN OVARIIEKTOMI

Hashfi Mafazi, Retty Ratnawati, Hermawan Wibisono

Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Menopause merupakan kondisi wanita yang telah mengalami hipoestrogen. Hormon estrogen berperan penting dalam siklus perkembangan endometrium. Pada kondisi hipoestrogen resiko terjadinya perdarahan abnormal uterus akan semakin meningkat. Kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) sebagai fitoestrogen mengandung *genistein* yang dapat menjadi pilihan alternatif pengganti hormon estrogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) terhadap ketebalan endometrium tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan ovariektomi sehingga hipoestrogen selama 30 hari. Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* pada 30 ekor tikus dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu : kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan), kelompok kontrol positif (dengan ovariektomi), dan 3 kelompok perlakuan dengan ovariektomi serta diberi ekstrak kacang tunggak dengan dosis 1,25 mg/kgBB/hari, 2,5 mg/kgBB/hari, 5 mg/kgBB/hari. Kemudian dilakukan penghitungan ketebalan dengan menggunakan dot slide mikroskop pencahayaan Olympus XC 10 dan *software Olyvia* dengan perbesaran 400x, dan satuan ketebalan endometrium adalah μm . Analisis One Way ANOVA menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kacang tunggak berpengaruh terhadap ketebalan endometrium secara signifikan ($p < 0,05$) dibanding kelompok kontrol positif. Hasil uji lanjutan *Post Hoc* LSD didapatkan hasil ketebalan endometrium meningkat dengan pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dosis 1,25 mg/kgBB/hari dan dosis 2,5 mg/kgBB/hari. Ketebalan endometrium tertinggi terdapat pada pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dosis 2,5 mg/kgBB/hari. Analisis korelasi Pearson menunjukkan bahwa pemberian dosis ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) memiliki korelasi negatif sehingga semakin tinggi dosis akan semakin menurunkan ketebalan endometrium. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dapat meningkatkan ketebalan endometrium tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan ovariektomi dengan dosis signifikan 2,5 mg/kgBB/hari.

Kata kunci : endometrium, *Vigna unguiculata*, estrogen, fitoestrogen, menopause

ABSTRACT

Menopause is a condition when a woman has experienced hipoestrogen period. Estrogen hormone is crucial in endometrial development cyle. In hipoestrogen period, the occurance risk of abnormal uterus bleeding is increasing. Cowpea (*Vigna unguiculata*) as fitoestrogen contains *genistein* that can be used as an alternative for estrogen hormone substitute. The aim of this observation is to know the effect of cowpea (*Vigna unguiculata*) extract towards endometrium thickness in wistar strain rats (*Rattus norvegicus*) with Ovariectomy so it will reach hipoestrogen in 30 days. The design of this study is experimental using *post test only control group design* on 30 rats divided into 5 groups, which is: negative control group (without treatment), positive control group (with ovariectomy), and 3 groups with ovariectomy with different dose of cowpea (*Vigna unguiculata*) extract which is 1.25 mg/kgBW/day, 2.5 mg/kgBW/day, and 5 mg/kgBW/day. Endometrium thickness is then measured using dot slide light microscope Olympus XC 10 and *Olyvia* software with 400x magnification, using μm as measurement unit of endometrium thickness. One Way ANOVA analysis shows that treatment using cowpea (*Vigna unguiculata*) extract affects endometrium thickness significantly ($p < 0.05$) compared to positive control group. Advance test result using *Post Hoc* LSD method shows that endometrium thickness increases after injected with cowpea (*Vigna unguiculata*) extract with a dose of 1.25 mg/kgBW/day. The most significant effect is achieved using a dose of 2.5 mg/kgBW/day of cowpea (*Vigna unguiculata*) extract. Pearson Correlation Analysis shows

that treatment using cowpea (*Vigna unguiculata*) extract has negative correlation, thus the higher the dose of cowpea (*Vigna unguiculata*) extract is used, the lower the endometrial thickness gets. The conclusion of this observation is that treatment using cowpea (*Vigna unguiculata*) extract increases endometrium thickness in wistar strain rats (*Rattus norvegicus*) with ovariectomy with significant dose of 2.5 mg/kgBW/day.

Keywords : endometrium, *Vigna unguiculata*, estrogen, fitoestrogen, menopause

PENDAHULUAN

Jumlah penduduk Indonesia terus mengalami pertumbuhan dari tahun ke tahun dengan total jumlah penduduk sebanyak 237,6 juta pada tahun 2010 (1). Hingga saat ini telah terjadi kenaikan angka harapan hidup penduduk Indonesia yaitu 70,1 tahun pada periode 2010-2015 kemudian diproyeksikan naik menjadi 72,2 tahun pada periode 2030-2035 (2). Dengan meningkatnya angka harapan hidup, maka jumlah wanita menopause juga akan meningkat. Jumlah wanita menopause pada tahun 2005 sekitar 11% dan kemudian meningkat sebesar 14% pada tahun 2015 (3).

Menopause secara diagnostik adalah sebutan bagi wanita yang berusia lebih dari 45 tahun yang haidnya tidak teratur atau tidak haid dimana sudah sedikit ovarium bekerja bahkan tidak lagi bekerja sehingga terjadi hipoestrogen (4,5). Gejala dari wanita yang sudah memasuki masa menopause antara lain perdarahan abnormal uterus, haid yang mulai tidak teratur, *hot flushes*, kulit kering, vagina kering, serta libido yang menurun (6).

Endometrium adalah organ dalam wanita yang bergantung pada hormon estrogen terutama dalam siklus menstruasi. Estrogen disekresikan oleh ovarium kemudian menuju endometrium untuk berikatan dengan *estrogen receptor* yang ada di endometrium. Ikatan estrogen dan *estrogen receptor* akan menstimulasi proliferasi sel dan akan meningkatkan ketebalan endometrium (7, 8, 9).

Kondisi hipoestrogen pada menopause menyebabkan penurunan ikatan estrogen dengan *estrogen receptor* sehingga proliferasi sel akan terhambat dan terjadi penurunan ketebalan endometrium. Dengan terjadinya penipisan endometrium, maka akan terjadi atrofi yang dapat

menstimulasi munculnya gejala perdarahan abnormal uterus yang dialami oleh kurang lebih 20% wanita menopause (7).

Kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) mengandung banyak fitoestrogen yang dapat menurunkan gejala-gejala yang dialami wanita menopause (8). Selain itu, fitostrogen lebih aman dibandingkan dengan estrogen karena memiliki aktifitas yang lebih rendah. Kandungan fitoestrogen terpenting adalah *isoflavone* yang memiliki unsur utama *genistein* dan *dadzein* yang dapat menjadi pengganti hormon estrogen yang sudah menurun (9).

Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Diel dkk (2001) menyebutkan bahwa fitoestrogen dapat meningkatkan ketebalan endometrium dengan cara berikatan dengan *estrogen receptor* yang terdapat pada endometrium (10). Namun, berdasarkan penelitian Balk dkk (2002) dan juga Quaas dkk (2013) menyebutkan bahwa fitoestrogen tidak memiliki efek pada endometrium (11,12).

METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental sesungguhnya (*true experimental*) dengan pendekatan *post test only control group design*. Perlakuan terhadap hewan coba pada penelitian ini dengan dilakukan tindakan ovariectomi untuk menciptakan kondisi hipoestrogen yaitu terjadi pada 28 hari pasca ovariectomi hal ini ditandai dengan kenaikan pH vagina sampai lebih dari 7,3. Setelah pengukuran pH, dilanjutkan dengan pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dengan berbagai dosis yaitu 1,25 mg/kgBB/hari, 2,5 mg/kgBB/hari, dan 5 mg/kgBB/hari selama 30 hari.

HASIL

Gambar 1. Rata-Rata Ketebalan Endometrium Tikus Galur Wistar

Gambar 1 menginformasikan rata-rata ketebalan endometrium tikus K- paling tinggi sebesar $987,79 \pm 234,83 \mu\text{m}$. Tertinggi kedua rata-rata ketebalan endometrium tikus P2 sebesar $547,28 \pm 175,22 \mu\text{m}$. Kemudian tertinggi ketiga ketebalan endometrium tikus P3 sebesar $497,41 \pm 99,45 \mu\text{m}$. Selanjutnya urutan keempat ketebalan endometrium tikus P1 sebesar $477,95 \pm 138,23 \mu\text{m}$. Kelompok perlakuan K+ berada pada urutan kelima yang menghasilkan ketebalan endometrium tikus sebesar $353,10 \pm 98,71 \mu\text{m}$.

Hasil uji normalitas data menunjukkan bahwa data terdistribusi normal $p = 0,109$ ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji homogenitas varian data yang menunjukkan bahwa data homogen $p = 0,174$ ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa seluruh sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sama dan sejenis.

Karena memenuhi uji normalitas dan uji homogenitas, bisa dilanjutkan dengan Uji *One Way ANOVA*. Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan nilai probabilitas $p = 0,000$ ($p < 0,05$) hal ini menunjukkan minimal ada satu pasang dosis yang menghasilkan ketebalan endometrium tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diovariaktomi yang berbeda signifikan.

PEMBAHASAN

Hasil uji Korelasi Pearson menunjukkan nilai $r = -0,450$ ($p = 0,005$), berarti semakin tinggi dosis ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) maka akan diikuti berkurangnya ketebalan endometrium tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*).

Hasil dari pengukuran ketebalan endometrium menunjukkan bahwa memang terjadi penurunan ketebalan endometrium pada tikus kontrol positif 35,75% dibandingkan dengan tikus kontrol negatif. Hal ini dikarenakan endometrium merupakan bagian organ uterus yang sangat sensitif dengan perubahan hormon estrogen yang berperan penting untuk proliferasi (13). Pada kelompok P1 terjadi peningkatan ketebalan endometrium sebesar 35,36% jika dibandingkan dengan ketebalan pada kelompok perlakuan K+. Hal ini dikarenakan ekstrak kacang tunggak mengandung fitoestrogen terutama genistein yang secara kimia menyerupai estrogen sehingga dapat berperan sebagai pengganti estrogen yang berkurang akibat perlakuan ovariaktomi (14).

Fitoestrogen merupakan senyawa yang dihasilkan dari derivat ekstrak tanaman kacang tunggak. Fitoestrogen memiliki berbagai macam

isoflavon. Isoflavon ini memiliki kandungan antara lain genistein, quercetin, dan daidzein, namun genistein merupakan komponen mayor untuk dapat berikatan dengan *Estrogen Receptor* (ER) akibat kesamaan molekul kimia dengan estrogen (15, 14). Aktivasi dari ER oleh genistein memberikan efek estrogenik sehingga dapat menginduksi proliferasi sel yang selanjutnya mampu meningkatkan ketebalan endometrium (8, 16). Genistein dapat berikatan dengan 2 jenis ER, namun memiliki tingkat afinitas lebih tinggi pada ER β (14). ER β sendiri memiliki efek antiproliferatif sedangkan ER α memiliki efek proliferasi. Antara ER β dengan ER α bersifat agonis/antagonis yaitu ketika ER β aktif maka akan menghambat efek dari ER α (17)

Kelompok P2 memiliki peningkatan ketebalan endometrium yang signifikan sebesar 54,99% dibandingkan dengan ketebalan pada perlakuan K+. Hal ini menunjukkan bahwa fitoestrogen dengan dosis 2,5 mg/kgBB/hari berikatan dengan lebih banyak reseptor estrogen yang terdapat pada endometrium sehingga dapat meningkatkan ketebalan endometrium tanpa menunjukkan resiko hiperplasia atau meningkatnya jumlah sel endometrium yang menjadi resiko pada pemberian estrogen normal.

Genistein dalam fitoestrogen memiliki potensi yang lebih rendah dibandingkan dengan estradiol. Genistein mempunyai kekuatan ikatan 87% dibandingkan ikatan estrogen pada ER β , dan hanya 4% kekuatan ikatan pada ER α (18). Genistein pada endometrium akan lebih banyak mengaktifkan ER β karena memiliki afinitas lebih tinggi sehingga menghasilkan efek antagonis pada ER α . Hal tersebut membuat efek proliferasi muncul namun tidak berlebihan karena efek ER β lebih dominan (19).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketebalan endometrium mengalami penurunan ketebalan pada kelompok P3. Hal ini terlihat dari peningkatan rerata ketebalan endometrium kelompok P3 yaitu sebesar 40,86% lebih kecil daripada kelompok P2 yang peningkatan ketebalannya sebesar 54,99% jika dibandingkan dengan ketebalan pada kelompok K+. Hal ini dikarenakan fitoestrogen berperan sebagai natural *Selective Estrogen Receptor Modulator* (SERM).

Pada konsentrasi rendah fitoestrogen akan menstimulasi proliferasi sel, sedangkan pada konsentrasi tinggi akan menghambat proliferasi sel (17). Pada dosis 5 mg/kgBB/hari, fitoestrogen mulai berubah menjadi bersifat antiestrogenik karena semakin banyak yang berikatan dengan ER β yang memiliki efek antiproliferasi daripada ER α yang bersifat proliferasi pada endometrium.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

- Ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dapat meningkatkan ketebalan endometrium tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan ovariectomi.
- Pada dosis 2,5 mg/kgBB/hari, ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) dapat meningkatkan ketebalan endometrium tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan ovariectomi secara signifikan.
- Peningkatan dosis yaitu 5mg/kgBB/hari, ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) akan bersifat antiestrogenik menurunkan ketebalan endometrium tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan ovariectomi.

SARAN

- Pengaruh variasi dosis ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) terhadap ketebalan endometrium tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan ovariectomi yang lebih banyak supaya dapat menentukan dosis efektif.
- Pengaruh lama waktu pemberian ekstrak kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) terhadap ketebalan endometrium tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) dengan ovariectomi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Pusat Statistik. Penduduk Indonesia-Hasil Sensus Penduduk Indonesia 2010. Jakarta. 2012
2. (Bappenas) Badan Perencanaan Pembangunan Nasional. Proyeksi Penduduk Indonesia Indonesia Population Projection 2010-2035. Jakarta. 2013.
3. Departemen Kesehatan RI. Profil

- Kesehatan Indonesia 2001 Menuju Indonesia Sehat 2020. Jakarta. 2005.
4. Harlow D, Gass M, Hall JE, Lobo R, Maki P, Rebar RW *et al.* Executive Summary of the Stages of Reproductive Aging Workshop + 10: Addressing the Unfinished Agenda of Staging Reproductive Aging. 2012; 97(4):1159–1168
 5. Guyton AC, Hall JE. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. Penerjemah : Irawati, Ramadani D, Indriyani F, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2006.
 6. National Intitute of Health. Menopause - Time For A Change. *National Intitute on Aging*. 2008.
 7. Hatasaka H. The Evaluation of Abnormal Uterine Bleeding. *Clinical Obstetrics And Gynecology*. 2005; 48(2): 258–273.
 8. Eden JA. Phytoestrogens For Menopausal Symptoms : A Review. *Maturitas*. (Online). 2012.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.maturitas.2012.03.006>. Diakses 28 Oktober 2015
 9. Horn-ross PL, John EM, Canchola AJ, Stewart SL, Lee MM. Phytoestrogen Intake and Endometrial Cancer Risk. *Journal of the National Cancer Institute*. 2003; 95(15): 6–12.
 10. Diel P, Smolnikar K, Schulz T, Laudenbach-Leschowski U, Michna H, Vollmer G. Phytoestrogens And Carcinogenesis- Differential Effects Of Genistein In Experimental Models Of Normal And Malignant Rat Endometrium. *European Society of Human Reproduction and Embryology*. 2001; 16(5): 997–1006.
 11. Balk JL, Whiteside D a., Naus G, DeFerrari E, Roberts JM. A Pilot Study Of The Effects Of Phytoestrogen Supplementation On Postmenopausal Endometrium. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*. 2002; 9(4): 238–42
 12. Quaas AM, Kono N, Mack WJ, Hodis HN, Felix JC, Paulson RJ, et al. Effect Of Isoflavone Soy Protein Supplementation On Endometrial Thickness, Hyperplasia, And Endometrial Cancer Risk In Postmenopausal Women: A Randomized Controlled Trial. *Menopause*. 2013; 20(8): 840–844
 13. Puspitadewi S. Potensi Agensia Anti Fertilitas Biji Tanaman Jarak (*Jatropha curcas*) dalam Mempengaruhi Profil Uterus Mencit (*Mus musculus*) Swiss Webster. *Jurnal Sains & Matematika (JSM)*. 2007; 15(4): 55–60.
 14. Sampey BP, Lewis TD, Barbier CS, Makowski L, Kaufman DG. Genistein Effects On Stromal Cells Determines Epithelial Proliferation In Endometrial Co-Cultures. *Experimental and Molecular Pathology*. 2011; 90(3): 257-63
 15. Kritzinger Q. Antimicrobial Activity And Fumonisin Associated With Cowpea (*Vigna unguiculata*). (Tesis). University of Pretoria. Pretoria. 2005.
 16. Pilišáková L, RIEČANSKY I, Jagla F. The Physiological Actions of Isoflavone Phytoestrogens. (Review). *Physiological Research*. 2010; 651- 664.
 17. Oseni T, Patel R, Pyle J, Jordan VC. Selective Estrogen Receptor Modulators and Phytoestrogens. *Planta Med*. 2008; 74(13): 1656 - 1665.
 18. Whitten PL, Patisaul HB. Cross-Species and Interassay Comparisons of Phytoestrogen Action Types of Phytoestrogens. *Enviromental Health Perspectives*. 2001; 109(1) : 5 - 20.
 19. Hapangama DK, Kamal AM, Bulmer JN. Estrogen Receptor B: The Guardian Of The Endometrium. *Human Reproduction Update*. 2014; 0(0): 1–20.