

**AKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN KENITU (*Chrysophyllum  
cainito*) TERHADAP PENINGKATAN KEPADATAN TULANG  
TRABEKULAR VERTEBRA MENCIT BETINA YANG DIINDUKSI  
DEKSAMETASON**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ABDUL SYAKUR MUSTOFA**  
NIM. 13670060



**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2018**

**AKTIVITAS EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN KENITU (*Chrysophyllum  
cainito*) TERHADAP PENINGKATAN KEPADATAN TULANG  
TRABEKULAR VERTEBRA MENCIT BETINA YANG DIINDUKSI  
DEKSAMETASON**

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada**

**Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

**Oleh**

**Abdul Syakur Mustofa**

**NIM. 13670060**

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2018**

**AKTIVITAS DAUN KENITU (*Chrysophyllum cainito*) TERHADAP  
KEPADATAN TULANG TRABEKULAR VERTEBRA MENCIT BETINA  
YANG DIINDUKSI DEKSAMETASON**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**ABDUL SYAKUR MUSTOFA**

**NIM. 13670060**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:**

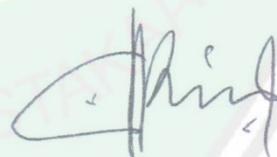
**Tanggal: 2018**

**Pembimbing I**



**Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm, Apt**  
**NIP. 19900221 201801 1 001**

**Pembimbing II**



**Ria Ramadhani D.A., M.Kep., Ns**  
**NIP. 19850617 200912 2 005**



**Mengetahui,  
Ketua Jurusan Farmasi**

**Dr. Rohatul Mutiah, M.Kes., Apt**  
**NIP. 19800203 200912 2 001**

**AKTIVITAS DAUN KENITU (*Chrysophyllum cainito*) TERHADAP  
KEPADATAN TULANG TRABEKULAR VERTEBRA MENCIT BETINA  
YANG DIINDUKSI DEKSAMETASON**

**SKRIPSI**

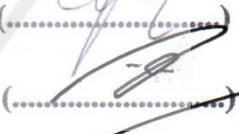
**Oleh:**

**ABDUL SYAKUR MUSTOFA**

**NIM. 13670060**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

**Tanggal: 2018**

<b>Penguji Utama</b>	<b>: Meilina Ratna Dianti, M.Kep., Ns</b> (.....)	
	<b>NIP. 19820523 200912 2 001</b>	
<b>Ketua Penguji</b>	<b>: Ria Ramadhani D.A., M.Kep., Ns</b> (.....)	
	<b>NIP. 19850617 200912 2 123</b>	
<b>Sekretaris Penguji</b>	<b>: Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt</b> (.....)	
	<b>NIP. 19900221 201801 1 001</b>	
<b>Anggota Penguji</b>	<b>: Ach. Nashichuddin</b> (.....)	
	<b>NIP. 19730705 200031 1 002</b>	



**Mengesahkan,**

**Ketua Jurusan Farmasi**

**Dr. Komarul Mutiah, M.Kes, Apt**

**NIP. 19800203 200912 2 001**

**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Abdul Syakur Mustofa  
NIM : 13670060  
Jurusan : Farmasi  
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan  
Judul : Aktivitas Ekstrak Etil Asetat Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) Terhadap Peningkatan Kepadatan Tulang Trabekular Vertebra Mencit Betina yang Diinduksi Deksametason

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 3 Mei 2018

Yang membuat pernyataan,



Abdul Syakur mustofa

NIM. 13670060

**MOTO**

**TRY, TRY AND TRY UNTIL LAMB BECOME LION**



## PERSEMBAHAN

Bukan tentang waktu yang dilalui, namun bagaimana bertahan dalam asa.

*“Alhamdulillah”*, skripsi terselesaikan jua.

Teruntuk orangtua tercinta,

ayahanda H. Mustofa dan ibunda Hj. Maisaroh S.Ag

terimakasih karena tak pernah lelah memperjuangkan serta memanjatkan doa.

Saudara tersayang, mas Raf Adi, dek Fatimatuz Zahroh A.Md Kep, dek Robiatul Adawiyah, dek Dzurrotun Nafisah dan dek Nabil

terimakasih karena tak pernah bosan memberikan semangat.

Sahabat seperjuangan *Golden of Pharmacy* dan banyak pihak yang tak bisa disebutkan satu persatu,

terimakasih atas energi positif yang diberikan kepada penulis.

My fire keeper yang tak pernah lelah menghadirkan semangat di setiap paginya

*“Jazakumullah khairan wa ahsanal jaza”*

*Amin*

## KATA PENGANTAR

*Assalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

Segala puji bagi Allah Swt. yang telah melimpahkan nikmat, rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penyusunan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana dalam bidang farmasi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bimbingan serta arahan dari berbagai pihak. Untuk itu ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan terutama kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Prof. Dr. Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp.BP-REDr selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt, selaku ketua Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt, selaku dosen pembimbing I yang banyak memberikan arahan, nasihat, motivasi dan berbagai pengalaman yang berharga kepada penulis
5. Ach. Nashichuddin, MA., selaku dosen pembimbing II yang telah banyak memberikan arahan dan berbagai ilmunya kepada penulis
6. Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep., selaku konsultan yang telah memberikan arahan, motivasi dan berbagai ilmunya kepada penulis

7. Segenap sivitas akademika Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang terutama seluruh dosen, terima kasih atas segala ilmu dan bimbingannya
8. Ayah dan ibu tercinta yang telah mencurahkan cinta kasih, doa, bimbingan, dan motivasi hingga selesainya skripsi ini
9. Saudara-saudara tersayang yang telah memberikan semangat kepada penulis
10. Nur Imamah Utamingtyas S.Farm., yang tak pernah lelah membantu penulisan skripsi ini hingga selesai.
11. Seluruh teman-teman di Jurusan Farmasi angkatan 2013 yang berjuang bersama-sama untuk meraih mimpi dan terima kasih untuk setiap kenangan indah yang dirajut bersama dalam menggapai impian
12. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik moril maupun materiil

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

*Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>v</b>
<b>MOTO .....</b>	<b>vi</b>
<b>PERSEMBAHAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>xvi</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xvii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian .....	7
1.4 Manfaat Penelitian .....	7
1.5 Batasan Masalah .....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>8</b>
2.1 Kenitu ( <i>Chrysophyllum cainito</i> L.).....	8
2.1.1 Klasifikasi dan Deskripsi Kenitu .....	8
2.1.2 Morfologi Daun Kenitu.....	9
2.1.3 Kandungan Kimia dan Aktivitas Kenitu.....	10
2.2 Flavonoid .....	11
2.3 Estrogen .....	14
2.4 Fitoestrogen.....	16
2.5 Ekstraksi.....	18
2.5.1 Ultrasonikasi .....	18
2.6 Pascamenopause .....	18
2.7 Tulang .....	19
2.7.1 Fisiologi Tulang .....	19

2.7.2	Komposisi Tulang.....	20
2.7.3	Sel Tulang.....	20
2.8	Osteoporosis.....	24
2.8.1	Pengertian Osteoporosis.....	24
2.8.2	Patofisiologi Osteoporosis.....	25
2.8.3	Uji Aktivitas Peningkatan Kepadatan Tulang.....	28
2.9	Hewan Coba <i>Mus Muculus</i> .....	30
2.10	Manfaat Tanaman Dalam Alquran.....	32
<b>BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....</b>		<b>39</b>
3.1	Kerangka Konsep.....	39
3.2	Uraian Kerangka Konseptual.....	40
3.3	Hipotesis Penelitian.....	41
<b>BAB IV METODE PENELITIAN.....</b>		<b>42</b>
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	42
4.1.1	Jenis Penelitian.....	42
4.1.2	Rancangan Penelitian.....	42
4.2	Waktu dan Tempat Penelitian.....	43
4.3	Sampel Penelitian.....	44
4.3.1	Sampel Tanaman.....	44
4.3.2	Sampel Hewan Coba.....	44
4.4	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	45
4.4.1	Variabel Penelitian.....	45
4.4.2	Definisi Operasional.....	45
4.5	Alat dan Bahan Penelitian.....	46
4.5.1	Alat.....	46
4.5.2	Bahan.....	46
4.6	Prosedur Penelitian.....	46
4.6.1	Prosedur Pembuatan Simplisia Daun <i>C. cainito</i> .....	46
4.6.2	Prosedur Pembuatan Ekstrak Etil asetat Daun <i>C. cainito</i> .....	47
4.6.3	Pembuatan Bahan Uji.....	48
4.6.4	Uji Aktivitas Antiosteoporosis Peningkatkan Kepadatan Tulang Vertebra Mencit Betina.....	50

4.6.5	Penentuan Dosis.....	51
4.7	Analisis Statistika.....	53
<b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>55</b>
5.1	Preparasi Simplisia Daun kenitu.....	55
5.2	Pengukuran Nilai Kadar Air .....	56
5.3	Ekstraksi Daun <i>C. cainito</i> .....	56
5.4	Identifikasi Flavonoid .....	58
5.5	Uji Aktivitas Peningkatan Kepadatan Tulang Trabekular .....	59
5.6	Analisis Data.....	63
5.7	Aktivitas kandungan ekstrak etil asetat daun kenitu dalam perspektif islam.....	68
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>70</b>
6.1	Kesimpulan .....	70
6.2	Saran .....	70
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>71</b>
<b>LAMPIRAN-LAMPIRAN .....</b>		<b>77</b>

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Hasil Uji <i>Moisture Content</i> Simplisia Kering Daun <i>C. cainito</i> .....	77
Lampiran 2: Hasil Pembacaan Histofotometri dengan perbesaran 100x .....	79
Lampiran 3: Data persentase kepadatan tulang trabekular vertebra mencit betina	84
Lampiran 4: Hasil Analisis Data .....	87
Lampiran 5: Dokumentasi Penelitian .....	89
Lampiran 5: Perhitungan pembuatan sediaan .....	92



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pohon kenitu (A) dan bagian daun kenitu (B) .....	10
Gambar 2.2 Struktur dasar flavonoid .....	11
Gambar 2.3 Struktur senyawa hormon estrogen .....	15
Gambar 2.5 Proses remodelling tulang .....	23
Gambar 4.2 Skema rancangan penelitian .....	53
Gambar 5.1 (A) Uji flavonoid dengan metanol, (B) Uji flavonoid dengan etil asetat.....	59
Gambar 5.2 Mencit normal (A) dan osteoporosis (B).....	61
Gambar 5.3 Contoh hasil histofotometri.....	62



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sifat golongan flavonoid.....	13
Tabel 2.2 Kelas dan subkelas fitoestrogen.....	17
Tabel 2.1 Data biologis mencit di laboratorium.....	31
Tabel 5.1 Nilai kadar air simplisia kering daun <i>C. cainito</i> .....	56
Tabel 5.2 Ekstraksi Daun <i>C. cainito</i> .....	58
Tabel 5.3 Data rerata persentase kepadatan tulang tiap kelompok .....	62
Tabel 5.4 Hasil uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> .....	63
Tabel 5.5 Hasil uji homogenitas varian <i>Levene's test</i> .....	64
Tabel 5.6 Hasil ANOVA <i>one-way</i> .....	64
Tabel 5.7 Hasil Uji LSD.....	65

### DAFTAR SINGKATAN

BMP	: <i>Bone Morphogenetic Protein</i>
E2	: <i>17<math>\beta</math>-estradiol</i>
ER	: <i>Estrogen Receptor</i>
ER- $\alpha$	: <i>Estrogen alpha</i>
ER- $\beta$	: <i>Estrogen betha</i>
FSH	: <i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GF	: <i>Folikel de Graff</i>
HE	: <i>Hematoksilin dan Eosin</i>
HRT	: <i>Hormon Replacment Therapy</i>
IGF	: <i>Insulin Growth Factor</i>
IL 1	: <i>Interleukin 1</i>
IL6	: <i>Interleukin 6</i>
IL 11	: <i>Interleukin 11</i>
LH	: <i>Lutenising Hormone</i>
LT	: <i>Lymphotocin</i>
NFATC1	: <i>Nuclear Factor of Activated T Cell 1</i>
OPG	: <i>Osteoprotegerin</i>
PGE2	: <i>Prostaglandin E2</i>
PTH	: <i>Parathyroid Hormone</i>
PTHrp	: <i>Parathyroid Hormone Related Protein</i>
RANK	: <i>Recseptor Activator of NuclearFactor-<math>k\beta</math></i>
RANKL	: <i>Reseptor Activator of Nuclear Factor-<math>k\beta</math> Ligand</i>
T <sub>3</sub>	: <i>Triiodothyronin</i>
T <sub>4</sub>	: <i>Tetraiothyronin</i>
TGF $\alpha$	: <i>Transforming Growth Factor <math>\alpha</math></i>
TGF $\beta$	: <i>Transforming Growth Factor <math>\beta</math></i>
TNF $\beta$	: <i>Beta Tumor Necrosis Factor <math>\beta</math></i>

## ABSTRAK

Mustofa, Abdul Syakur. 2018. **Aktivitas Ekstrak Etil Asetat Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) Terhadap Peningkatan Kepadatan Tulang Trabekular Vertebra Mencit Betina (*Mus musculus*) yang diinduksi deksametason**. Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.  
Pembimbing: (I) Burhan Ma'arif Z. A., M.Farm., Apt.  
(II) Ach. Nashichuddin, MA.  
Konsultan : Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep.,NS., M.Kep.

Osteoporosis merupakan penyakit degeneratif yang dapat juga disebabkan obat-obatan golongan kortikosterod. Penggunaan senyawa aktif yang dapat mengatasi osteoporosis akibat defisiensi estrogen pada wanita pasca menopause menjadi pilihan yang banyak digunakan. Salah satu senyawa aktif yang memiliki aktivitas estrogenik adalah isoflavin yang merupakan fitoestrogen. Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) merupakan salah satu tanaman yang diketahui mengandung senyawa isoflavin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etil asetat daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dalam peningkatan kepadatan tulang trabekular vertebra pada mencit betina (*Mus musculus*) yang diinduksi deksametason serta berapa dosis optimumnya. Penelitian ini dilakukan dengan 5 kali pengulangan dan 5 perlakuan. Perlakuan yang dilaksanakan adalah 3 kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etil asetat daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) menggunakan ragam dosis 2 mg, 4 mg dan 8 mg. Perlakuan lain adalah kontrol positif dan kontrol negatif. Data hasil uji diambil dengan cara membagi jumlah luas area trabekular dengan luas area hitung. Data yang didapat kemudian dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* dan uji *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui dosis optimum dari ekstrak etil asetat daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dalam meningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebra.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) memiliki aktivitas peningkatan kepadatan tulang trabekular vertebra mencit betina (*Mus musculus*) yang diinduksi deksametason. Dosis optimum dari hasil penelitian ini tidak dapat ditentukan karena hasil uji LSD (*Least Significant Difference*) tidak menyatakan adanya perbedaan antar dosis perlakuan.

**Kata kunci:** Daun Kenitu, Etil Asetat, Fitoestrogen, Trabekular, Kepadatan Tulang.

## ABSTRACT

Mustofa, Abdul Syakur. 2018. **The Activity of Ethyl Acetate Extract of Kenitu Leaf (*Chrysophyllum cainito L.*) to Increased Vertebral Trabecular Bone Density of Female Mice (*Mus musculus*)**. Thesis. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang.

Advisor: (I) Burhan Ma'arif Z. A., M.Farm., Apt.

(II) Ach. Nashichuddin, MA.

Consultant: Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep.

Osteoporosis is a degenerative disease that caused by corticostero class drugs. The use of active compounds that can overcome osteoporosis to estrogen deficiency in postmenopausal women, this use of active compounds becomes a widely used option. Isoflavones is one of the active compounds that have estrogenic activity. Isoflavones also is the phytoestrogens. Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*) is one of the plants that known to contain isoflavones.

This research purposes to determine the activity of ethyl acetate extract of kenitu leaf (*Chrysophyllum cainito L.*) in increased vertebral trabecular bone density in dexamethasone induced female mice (*Mus musculus*) and its optimum dose. This research was conducted with 5 repetitions and 5 treatments. The treatment was been with 3 treatment groups, this treatment with the giving of ethyl acetate extract of kenitu leaf (*Chrysophyllum cainito L.*) using dose of 2 mg, 4 mg and 8 mg. Other treatments was positive control and negative control. Test result data is taken with dividing the total area of trabecular area with the calculation area. Then, that data were analyzed using *One-Way ANOVA* test and *Least Significant Difference (LSD)* test to determine the optimum dose of ethyl acetate extract of kenitu leaf (*Chrysophyllum cainito L.*) in increased vertebral trabecular bone density.

The results of this research indicate that the ethyl acetate extract of kenitu leaf (*Chrysophyllum cainito L.*) has increased activity of vertebral trabecular bone density in dexamethasone induced female mice (*Mus musculus*). The optimum dose of the results of this research can't be determined, because the *Least Significant Difference (LSD)* test results not indicate any differences between treatment doses.

**Keywords:** Kenitu Leaf, Ethyl Acetate, Phytoestrogens, Trabecular, Bone Density.

## ملخص البحث

مصطفى، عبد الشكور. 2018. **النشطة مستخلص الإيتيل أسيتات أوراق كينيتو (كرويسوفيلوم كينيتول). على زيادة كثافة العظام ترايكلار الفقاري من الإناث الفئران (موس موسكولوس).** البحث العلمي. قسم الصيدلية. كلية الطب والعلوم الصحية. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج.

المشرف الأول: برهان معاريف، ز.أ.، الماجستير، المشرف الثاني: أحمد نصيحودين، الماجستير. الاستشاري: ريارمضاني دوي أتماجا، الماجستير.

هشاشة العظام هو مرض التنكسية التي علبة أيضا أن تكون ناجمة عن الأدوية فئة كورتيكوستيروود. استخدام المركبات النشطة التي علبة أن تتغلب على هشاشة العظام بسبب نقص هرمون الاستروجين في النساء بعد إنقطاع الطمث يصبح خيارا يستخدم على نطاق واسع. واحدة من المركبات النشطة التي لها النشاط الاستروجانيك هو الايسوفلافون، الايسوفلافون هو فيتويستروجين. كينيتو (كرويسوفيلوم كينيتول). هو واحدة من النباتات المعروفة يحتوي على المركبات الايسوفلافون.

وتهدف هذه البحث إلى تحديد النشطة مستخلص الإيتيل أسيتات أوراق كينيتو (كرويسوفيلوم كينيتول). على زيادة كثافة العظام ترايكلار الفقاري من الإناث الفئران (موس موسكولوس) التي يسببها ديكساميتاسون وكذلك كيف جرعة المثله. أجريت هذه البحث مع 5 التكرار و 5 العلاجات. أجريت المعاملة من قبل 3 مجموعات من العلاج مع إعطاء مستخلص الإيتيل أسيتات أوراق كينيتو (كرويسوفيلوم كينيتول). باستخدام منوع جرعة من 2 ميليغرام، 4 ميليغرام و 8 ميليغرام. العلاجات الأخرى هي السيطرة الإيجابية والسيطرة السلبية. تؤخذ بيانات نتيجة الاختبار بقسمة المساحة الإجمالية للمنطقة الترابيقيية مع منطقة الحساب. ثم تحليل البيانات تم باستخدام اختبار اتجاه واحد أنوفا واختبار الفرق الأقل أهمية (لسد) لتحديد الجرعة المثلى مستخلص الإيتيل أسيتات أوراق كينيتو (كرويسوفيلوم كينيتول). على زيادة كثافة العظام ترايكلار الفقاري.

تشير نتائج هذه البحث إلى أن مستخلص الإيتيل أسيتات أوراق كينيتو (كرويسوفيلوم كينيتول). له نشاط زيادة كثافة العظام ترايكلار الفقاري من الإناث الفئران (موس موسكولوس) التي يسببها ديكساميتاسون. لا تحديد الجرعات المثلى من نتائج هذه البحث لأن نتائج اختبار الفرق الأقل أهمية (لسد) لا تشير إلى أي اختلافات بين جرعات العلاج.

**الكلمات الرئيسية:** أوراق كينيتو ، الإيتيل أسيتات، فيتويستروجين، ترايكلار، كثافة العظام.

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Keberhasilan pembangunan bidang kesehatan di Indonesia meningkatkan angka harapan hidup masyarakat Indonesia. Peningkatan harapan hidup ditandai dengan tingginya jumlah masyarakat yang tergolong lansia di Indonesia. Berdasarkan sensus penduduk pada tahun 2010 jumlah penduduk lansia di Indonesia adalah 18,1 jiwa (7,6 % dari total penduduk Indonesia). Jumlah tersebut mengalami peningkatan pada tahun 2014, jumlah lansia Indonesia mencapai 18,781 jiwa (Kompasiana, 2017). Jumlah lansia di Indonesia lebih didominasi oleh wanita dibanding laki-laki, dimana persentase wanita lansia 9% sedangkan laki-laki 8% dari keseluruhan penduduk Indonesia (kemenkes, 2016). Peningkatan angka harapan hidup akan berimbas pada peningkatan jumlah penderita penyakit akibat penuaan yang salah satunya adalah osteoporosis. Menurut Perhimpunan Osteoporosis Indonesia (PEROSI), prevalensi osteoporosis tahun 2007 mencapai 28,8% untuk pria dan 32,3% untuk wanita (Noor, 2014).

Tingginya angka harapan hidup meningkatkan terjadinya keadaan menopause pada wanita Indonesia. Menopause merupakan keadaan yang biasa terjadi pada wanita lanjut usia. Penuaan yang terjadi pada wanita mengakibatkan berkurangnya kemampuan tubuh untuk melakukan metabolisme secara normal, akibatnya banyak penyakit menimpa wanita lanjut usia. Penyakit seperti demensia, rematik dan osteoporosis banyak dialami oleh wanita lanjut usia. Hal ini dikarenakan hormon dalam tubuh wanita tidak lagi bekerja secara normal.

Berkurangnya kemampuan sistem imun juga mempengaruhi terjadinya banyak penyakit pada wanita pasca menopause (Gameiro, 2010).

Kondisi wanita pada masa menopause akan mengalami kegagalan dalam produksi hormon estrogen. Kegagalan dalam memproduksi estrogen memicu ketidakseimbangan remodelling tulang, yakni dominasi resorpsi tulang yang melebihi formasi tulang (Karsdal, 2007). Selanjutnya, keseimbangan negatif kalsium akan mendukung pengeroposan tulang. Yakni dimana kalsium dari dalam usus berkurang akibat menurunnya kadar estrogen yang berperan dalam absorpsi tulang. Hal ini mengakibatkan rendahnya kadar kalsium dalam darah. Berkurangnya kadar kalsium dalam darah juga berakibat kurangnya asupan kalsium untuk tulang sehingga tulang mengalami kerapuhan dan mudah patah (Lane, 2001), sehingga wanita pasca menopause akan berpotensi menderita penyakit osteoporosis.

Osteoporosis dapat disebabkan oleh beberapa hal. Selain disebabkan oleh berkurangnya kadar estrogen dalam tubuh, osteoporosis dapat pula disebabkan oleh penggunaan obat-obatan golongan glukokortikosteroid seperti deksametason (Lane, 2001). Pengaruh penggunaan obat kortikosteroid pada proses remodelling tulang utamanya terjadi akibat supresi hipofisis yang dilakukan oleh obat-obatan glukokortikoid, dimana kondisi ini mengganggu proses produksi estrogen dalam tubuh karena kelenjar hipofisis anterior mensekresi hormon gonadotropin yang menstimulasi produksi androgen (prekursor estrogen) (Hernawati, 2012). Kekurangan hormone estrogen akan mempengaruhi tingkat ketahanan osteoklas

dan osteoblas, osteoklas menjadi lebih kuat dan osteoblas sebaliknya, sehingga tingkat resorpsi tulang akan lebih tinggi dibanding formasinya (Noor, 2014).

Tulang dibagi menjadi 2 yaitu tulang panjang dan tulang pipih. Bagian luar kedua tulang tersebut merupakan tulang padat, disebut korteks tulang. Sedangkan bagian dalamnya adalah bagian trabekular tulang yang terdiri dari lempengan tipis tersusun seperti bunga karang. Struktur tulang seperti ini merupakan jaringan tiga dimensi dengan konstruksi teknik yang luar biasa, sehingga dengan berat tulang yang ringan menjadikan tulang mempunyai kekuatan maksimal sehingga mampu menahan berat badan maupun beban yang lebih berat. Oleh karena itu, kepadatan pada tulang trabekular menjadi parameter untuk mengetahui keberlangsungan osteoporosis (Staub *et al.*, 1990; Riis, 1996).

Pada beberapa kasus kekurangan hormon estrogen, diberikan hormon tambahan berupa *Hormonal Replacement Therapy* (HRT). Penggunaan HRT memiliki fungsi sebagai pengganti dari hormon estrogen. Hormon ini diberikan untuk mengurangi efek defisiensi estrogen sehingga wanita pasca menopause terhindar dari osteoporosis. Penggunaan hormon tambahan berupa HRT dalam jangka panjang memicu terjadinya beberapa efek samping, seperti peningkatan resiko kanker payudara, penyakit trombo embolik, stroke, penyakit kardio vaskuler dan kanker endometrial (Willacy, 2013; Fogel, 2014). Efek samping yang tidak diharapkan ini mengakibatkan banyak pengonsumsi HRT menghentikan penggunaan HRT.

Adanya efek samping pada penggunaan HRT memicu maraknya pencarian pengobatan alternatif dengan efek samping lebih rendah. Beberapa penelitian

yang sedang digencarkan adalah penelitian terhadap fitoestrogen. Fitoestrogen merupakan senyawa-senyawa yang terkandung dalam tumbuhan yang memiliki kemiripan struktur dengan estrogen dan memiliki efek yang sama dengan estrogen (Mei, 2001). Kesamaan tersebut memberikan peluang bagi senyawa fitoestrogen untuk bertindak secara agonis pada reseptor estrogen (Beral, 2003). Konsumsi makanan dengan kandungan fitoestrogen diharapkan dapat mengembalikan kemampuan tubuh untuk memetabolisme kalsium dengan baik sehingga struktur tulang dapat kembali normal. Senyawa dalam tumbuhan yang memiliki aktivitas sebagai fitoestrogen antara lain isoflavon, lignan dan coumestan (Luigi, 2004).

Isoflavon merupakan senyawa polifenol yang mempunyai efek seperti estrogen, sehingga isoflavon diklasifikasikan sebagai senyawa turunan fitoestrogen dengan aktivitas estrogenik. Isoflavon banyak dimanfaatkan dalam kesehatan sebagai pencegah penyakit kardiovaskular, pencegah penyakit kanker, pencegah osteoporosis, pencegah penurunan fungsi kognitif, antioksidan dan pengganti terapi sulin hormon (Kridawati, 2011).

Penelitian terhadap tanaman juga didukung oleh QS. Al-An'aam/6:99, yaitu:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالرَّيثُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

*“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan kami keluarkan zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah, dan (perhatikan pula) kematangannya. Sesungguhnya, pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (QS. Al-An'aam/6:99).*

Ayat Alquran di atas menjelaskan tentang banyaknya pelajaran yang dapat diambil dari alam sekitar terutama tanaman. Proses tumbuhnya banyak tumbuhan di bumi hampir memiliki proses yang sama. Persemaian benih yang kemudian tumbuh tanaman dengan karakteristik masing-masingnya berbeda. Tanaman yang memiliki karakteristik dan anatomi berbeda memiliki kandungan senyawa aktif yang berbeda pula. Penelitian terkait senyawa aktif yang terkandung dalam suatu tanaman dapat dikategorikan sebagai proses pembacaan ayat-ayat Allah.

Tanaman yang berpotensi memiliki manfaat tinggi dan layak diteliti salah satunya kenitu. Tumbuhan bernama latin *Chrysophyllum cainito* ini banyak tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia. Tumbuhan ini memiliki senyawa aktif antara lain; tannin, resin, flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, glikosida, terpenoid dan fenolik (Shailajan, 2014). Senyawa aktif yang terkandung tersebut mengindikasikan adanya aktivitas biologis dari ekstrak kenitu, terutama senyawa aktifnya yang berupa flavonoid. Selain itu, rebusan daun kenitu diketahui dapat menyembuhkan diabetes dan rematik, dimana rematik merupakan salah satu penyakit yang dapat disebabkan pula oleh defisiensi estrogen (Hermanto, 2013). Berdasarkan data tersebut, maka daun kenitu layak untuk diteliti lebih lanjut guna mengetahui aktivitas dan manfaatnya bagi manusia, terutama dalam ruang lingkup pengobatan osteoporosis pada wanita pasca menopause. Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Utamingtyas (2017), yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun kenitu memiliki aktivitas dalam meningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebra mencit betina yang diinduksi deksametason.

Isoflavon yang merupakan salah satu kandungan kimia dalam turunan flavonoid, dimana flavonoid adalah salah satu kandungan kimia yang jumlahnya besar dalam daun kenitu, memiliki aktivitas sebagai fitoestrogen (Mario, 2004). Isoflavon merupakan bahan kimia yang berifat semi polar sehingga dapat larut dalam hampir semua pelarut. Pelarut yang diketahui baik dalam ekstraksi isoflavon adalah etil asetat (Dinata, 2006).

Latar belakang yang telah diuraikan diatas menegaskan perlunya diadakan penelitian terhadap aktivitas daun kenitu sebagai anti osteoporosis. Penelitian ini akan dilakukan secara *in vivo* dengan mencit betina sebagai hewan coba. Mencit betina tersebut diinduksi dengan kortikosteroid berupa deksametason sehingga mencit mengalami osteoporosis. Selanjutnya, diberikan beberapa perlakuan terhadap mencit berupa kontrol positif dan negatif serta pemberian ekstrak etil asetat dengan beberapa varian dosis. Kemudian diukur kepadatan tulang trabekular vertebratanya untuk diketahui aktivitas anti osteoporosis dari ekstrak etil asetat.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etil asetat daun kenitu dapat meningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebrata pada mencit betina yang diinduksi deksametason?
2. Berapakah dosis optimal ekstrak etil asetat daun kenitu terhadap peningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebrata pada mencit betina yang diinduksi deksametason?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas ekstrak etil asetat daun kenitu dalam meningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebrata pada mencit betina yang diinduksi deksametason.
2. Mengetahui dosis optimal ekstrak etil asetat daun kenitu terhadap peningkatan kepadatan tulang trabekular vertebrata pada mencit betina yang diinduksi deksametason.

### 1.4 Manfaat Penelitian

1. Dapat menambah khazanah pengetahuan tentang manfaat daun kenitu, khususnya dalam pengobatan osteoporosis.
2. Data dan hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu acuan untuk penelitian selanjutnya.
3. Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai model dalam penelitian selanjutnya.

### 1.5 Batasan Masalah

1. Penelitian ini berupa penelitian *in vivo* pada mencit betina yang diinduksi deksametason.
2. Daun kenitu yang digunakan adalah daun kenitu yang dipanen dari UPT Materia Medika Kota Batu.
3. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etil asetat.
4. Tulang yang dihitung kepadatannya adalah tulang trabekular vertebra.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.)

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Deskripsi Kenitu

*Chrysophyllum cainito* L. umumnya dikenal oleh masyarakat dengan istilah kenitu, sedangkan di daerah asalnya (Amerika tengah) disebut *star apple*. Kenitu berasal dari dataran rendah Amerika Tengah dan Hindia Barat. Karena manfaatnya, kini kenitu telah menyebar ke seluruh daerah tropis. Tanaman ini termasuk dalam family Sapotaceae dan banyak tumbuh didaerah dengan curah hujan tinggi dan lembab yaitu pada ketinggian 5-1000 meter dari permukaan laut. Kenitu merupakan jenis tumbuhan pohon yang tingginya berkisar 10-30 meter, berumur menahun (*perenial*). Termasuk tumbuhan hermafrodit (*self-fertile*) (Zulaikhah, 2015).

Secara sistematis tumbuhan kenitu diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dileniidae
Ordo	: Ebenales
Famili	: Sapotaceae
Genus	: <i>Chrysophyllum</i> L.

Spesies : *Chrysophyllum cainito* L. (USDA, 2003)

Pohon kenitu memiliki tinggi 25-100 kaki (8-30 meter) dengan batang pendek 3 kaki (1 meter), tebal dan padat, bagian daun belakang seperti berbulu, isi buah berwarna putih dan bergetah lateks. Buah berbentuk bulat atau elips yang berbentuk seperti buah pir dengan diameter 5-10 cm, berwarna merah-ungu, hitam-ungu atau hijau pucat, tekstur buah halus dan mengkilap. Bijinya 3-10 butir, keras, mengkilap, pipih agak bulat telur dengan panjang 1 cm berwarna coklat sampai hitam keunguan. (Morton, 1987).

### 2.1.2 Morfologi Daun Kenitu

Kenitu memiliki daun tunggal dengan permukaan atas berwarna hijau dan bawah coklat atau coklat keemasan karena ada bulu-bulu halus yang tumbuh terutama disisi bawah daun dan rerantingan. Umumnya panjang daun kenitu 9-14 cm dan lebar 3-5 cm. Helaian daun kenitu agak tebal, kaku, bentuk lonjong (*elliptica*), ujung runcing (*acutus*), pangkal meruncing (*acuminatus*), tepi rata dan pertulangan menyirip (*pinnate*). Duduk daun berseling, memencar, bentuk lonjong sampai bundar telur terbalik dengan luas 3-6 x 5-16 dan panjang tangkai daun 0,6-1,7 cm (Zulaikhah, 2015). Gambar daun kenitu dapat dilihat pada gambar 2.1 berikut:



**Gambar 2.1** Pohon kenitu (A) dan bagian daun kenitu (B) (Zahro, 2015 )

### 2.1.3 Kandungan Kimia dan Aktivitas Kenitu

Kenitu oleh masyarakat banyak dikonsumsi sebagai buah segar, meski juga dapat digunakan sebagai bahan baku es krim atau serbat. Pohon kenitu umumnya digunakan sebagai tanaman hias dan peneduh di taman-taman dan tepi jalan. Kayunya cukup baik sebagai bahan bangunan dan cabang-cabangnya yang tua dimanfaatkan untuk menumbuhkan anggrek (Zulaikhah, 2015).

Di samping itu, banyak bagian pohon yang berkhasiat obat misalnya kulit kayunya, getah, buah dan biji. Buah kenitu segar yang dikonsumsi dapat mengurangi peradangan pada tenggorokan dan paru-paru. Di Venezuela buah setengah masak digunakan untuk mengobati gangguan usus, namun bila berlebihan dapat menyebabkan sembelit. Sedangkan infuse kulit buah kaya akan zat tannin yang dapat digunakan untuk tonik, stimulant, obat diare, disentri, menghentikan pendarahan, radang dan obat ginirhoe. Biji kenitu yang rasanya pahit dimanfaatkan sebagai obat penurun panas, tonik dan diuretik dengan cara ditumbuk (Morton, 1987).

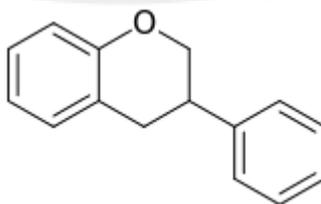
Kenitu berisi 67,2 kalori dengan kandungan protein 0,72-2,33 g, karbohidrat 14,7 g dan serat 0,55-3,33 g. Vitamin yang terkandung dalam kenitu yaitu karoten

0,004-0,039 mg, tiamin 0,018-0,08 mg, riboflavin 0,013-0,04 mg, niacin 0,935-1,340 mg dan asam askorbat 3,0-15,2 mg. Sedangkan asam amino yang terkandung dalam kenitu yaitu triptofan 4 mg, metionin 2 mg dan lisin 22 mg (Morton, 1987).

Daun kenitu telah diidentifikasi mengandung beta-amirin asetat dan asam gentisat sedangkan untuk buahnya telah diidentifikasi mengandung sembilan polifenol yaitu katekin, epikatekin, galokatekin, epigalokatekin, kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, mirisitrin dan asam galat (Luo *et al.*, 2002). Selain itu, daun kenitu juga mengandung alkaloid, fenol, flavonoid, sterol dan triterpen (N'guessan, 2008 dalam Koffi *et al.*, 2009). Kandungan flavonoid sendiri merupakan kandungan yang cukup tinggi dalam daun kenitu (Zuhro, 2015)

## 2.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa golongan polifenol terbesar yang banyak ditemukan di alam. Flavonoid memiliki kerangka dasar yang terdiri atas 15 atom C, dimana dua gugus C<sub>6</sub> (cincin benzen tersubstitusi) disambung oleh C<sub>3</sub> (rantai alifatik tiga-karbon) sehingga membentuk suatu susunan C<sub>6</sub>- C<sub>3</sub>- C<sub>6</sub> (Harbone, 1987). Struktur dasar senyawa flavonoid disajikan dalam gambar 2.3.



**Gambar 2.2** Struktur dasar flavonoid (Robinson, 1995)

Pengelompokan flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan

pada rantai C<sub>3</sub>, sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu flavonol, flavon, flavanon, kaekin, antosianidin dan kalkon (Robinson, 1995). Berikut ini beberapa sifat dan golongan flavonoid diantaranya (Harbone, 1987):



**Tabel 2.1** Sifat golongan flavonoid (Harbone,1987)

Golongan Flavonoid	Penyebaran	Ciri Khas
Antosianin	Pigmen bunga merah marak, merah, merah senduduk dan biru. Terdapat dalam daun dan jaringan lain.	Larut dalam air, $\lambda$ maks 515-545 nm, bergerak dengan BAA pada kertas*.
Proantosianidin	Terutama tanwarna, dalam galih dan daun tumbuhan berkayu.	Menghasilkan antosianidin (warna dapat diekstraksi dengan amil alkohol) bila jaringan dipanaskan dalam HCL 2 M selama setengah jam.
Flavonol	Terutama ko-pigmen tanwarna dalam bunga sianik dan asianik, tersebar luas dalam daun.	Setelah hidrolisis, berupa bercak kuning murup pada kromatogram forestall bila disinari dengan sinar UV; maksimal spectrum pada 350-386 nm.
Flavon	Terutama ko-pigmen tanwarna dalam bunga sianik dan asianik, tersebar luas dalam daun.	Setelah hidrolisis, berupa bercak coklat redup pada kromatogram forestalmaksima spectrum pada 330-350 nm.
Glikoflavon	Terutama ko-pigmen tanwarna dalam bunga sianik dan asianik, tersebar luas dalam daun.	Mengandung gula yang terikat melalui ikatan C-C; bergerak dengan pengembang air, tidak seperti flavon biasa.
Biflavonil	Tanwarna, hampir seluruhnya terbatas pada gimnospermae.	Pada kromatogram BAA berupa bercak redup dengan Rf tinggi**.
Khalkon atau auron	Pigmen bunga kuning, kadang-kadang terdapat juga dalam jaringan lain.	Dengan ammonia berwarna merah (perubahan warna dapat diamati in situ), maksimal spectrum 370-410 nm.
Flavanon	Tanwarna, dalam daun dan buah (terutama dalam citrus).	Berwarna merah kuat dengan Mg/HCl; kadang-kadang sangat pahit
Isoflavon	Tanwarna; sering kali dalam akar; hanya terdapat dalam satu suku, Leguminosae.	Bergerak pada kertas dengan pengembang air, tak ada uji warna yang khas.

Keterangan:

\*Bertalin menggantikan antosianin sebagai pigmen lembayung dalam satu bangsa tumbuhan yaitu *Centropomus*; mereka dapat dibedakan karena gerakannya sangat lambat dalam BAA dan jangka spectrum 530-545 nm.

\*\*Beberapa flavon yang banyak termetilasi menunjukkan perilaku yang serupa.

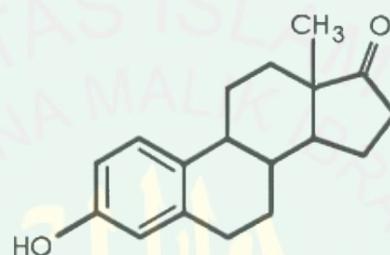
Flavonoid mempunyai sifat yang khas, yaitu bau yang sangat tajam, dapat larut dalam air dan pelarut organik, serta mudah terurai pada temperatur tinggi (Dinata, 2006). Sifat fisika dan kimia flavonoid antara lain adalah larut dalam air panas dan alkohol (Robinson, 1995). Flavonoid dapat diekstraksi dengan etil asetat dan tetap ada dalam lapisan air setelah ekstrak ini dikocok dengan eter minyak bumi (Harbone, 1987).

Flavonoid yang umumnya berwarna hijau bereaksi dengan senyawa radikal melalui transfer elektron atau atom hidrogen sehingga menghasilkan flavonol yang berwarna kuning. Fungsi flavonoid dalam tubuh manusia antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, antioksidan, antiinflamasi, mencegah keropos tulang dan sebagai antiseptik (Zulaikhah, 2015).

### **2.3 Estrogen**

Estrogen merupakan hormon yang berada dalam tubuh dan bekerja secara sistemik. Hormon ini mempunyai peran penting dalam sistem reproduksi, selain itu juga memelihara organ tubuh yang lain seperti otak, jantung dan tulang (Noteloviz, 2006). Estrogen alami dalam tubuh manusia yang paling kuat adalah  $17\beta$ -estradiol, diikuti estron dan estriol (Murray, 2006).

Estrogen merupakan steroid dengan 18 atom karbon yang mengandung satu cincin A fenofilik (cincin aromatik dengan gugus hidroksil pada karbon 3) dan gugus  $\beta$  hidroksi atau keton di posisi 17 cincin D. Cincin fenofilik A inilah yang bertanggung jawab terhadap ikatan selektif dan afinitas tinggi pada reseptor estrogen (Hardman and Limbric, 2001).



**Gambar 2.3** Struktur senyawa hormon estrogen (Anonim, 2010)

Pembentukan estrogen diawali dengan ikatan kolesterol dengan reseptor lipoprotein yang terdapat pada sel steroidogenik. Kolesterol kemudian disimpan dan dibawa untuk sintesa steroid. Pergerakan intraselular ini difasilitasi oleh sitoskeleton dan protein pembawa intraselular seperti pembawa protein sterol. Atom karbon pada pembentukan steroid dipangkas dari 27 menjadi 18. Proses akhir dari pembentukan estrogen adalah aromatisasi yang dikatalisis oleh enzim aromatase  $P_{450}$  (Gruber *et al.*, 2002).

Sitokrom aromatase  $P_{450}$  merupakan protein yang diproduksi oleh gen CYP19. Protein ini mengikat C19 androgenic steroid substrat dan mengkatalisa beberapa reaksi sehingga terbentuk cincin fenol A yang merupakan karakteristik dari estrogen (Simpson, 2001).

Efek estrogen berupa interaksi melalui reseptor yang merupakan anggota superfamili nukleus. Terdapat dua reseptor berbeda yaitu  $ER-\alpha$  maupun  $ER-\beta$

pada manusia. ER- $\alpha$  terekspresi pada otak, tulang, pituitari, ginjal, epididimis dan adrenal, sedangkan ER- $\beta$  didapatkan pada prostat, jantung, kandung kemih dan otak. ER- $\alpha$  dan ER- $\beta$  didapatkan pada ovarium, testis dan uterus (Gustafson, 1999; McEwen, 2002). Ikatan estrogen dan estrogen reseptor pada tulang mempengaruhi terjadinya *bone remodelling*, dimana estrogen meningkatkan penuaan pada sel osteoclas dan meningkatkan reproduksi pada sel osteoblas (Kameda, 1997).

#### 2.4 Fitoestrogen

Fitoestrogen adalah substansi derivat dari tanaman yang secara struktur maupun fungsional sama seperti 17 $\beta$ -estradiol (E2) (Duffy, 2007). Khasiat estrogenik terjadi karena fitostrogen juga memiliki 2 gugus -OH atau hidroksil yang berjarak 1,0-11,5 Å pada intinya, sama persis dengan inti estrogen sendiri. Para peneliti sepakat bahwa jarak 11 Å dan gugus -OH inilah yang menjadi struktur pokok suatu substrat agar mempunyai efek estrogenic, yakni memiliki afinitas tertentu untuk dapat “menduduki” *estrogen receptors*. Substrat-substrat tersebut baru akan berefek estrogenik apabila telah berikatan dengan reseptor-reseptor estrogen. Senyawa-senyawa tersebut antara lain isoflavon, lignan, coumestan dan Tripteren glikosid (Darmadi, 2011).

**Tabel 2.2** Kelas dan subkelas fitoestrogen (Mario, 2004)

Kelas	Subkelas	
	Glikosid	Aglikon
Isoflavon	Genistin Biochanin A	Genistein
	Daidzin Formononetin	Daidzein (dengan metabolitnya O-DMA dan equol)
	Glisetin	
Lignan	Seccoisolariciresinol	Enterediol
	Matairesionol	Enterolakton
Coumestan		Coumestrol

Fitoestrogen merupakan senyawa dari tumbuhan yang memiliki kemiripan struktur dengan estrogen sehingga dapat menunjukkan sifat agonis pada *Estrogen Receptor* (ER). Kemampuan meniru efek estrogen oleh fitoestrogen didasarkan oleh keberadaan senyawa dengan berat molekul setara dengan estrogen (272 g/mol), cincin fenolik sebagai binding site dan memiliki inti dengan dua gugus hidroksil dengan jarak 11,0-11,5Å. Terdapat 4 jenis senyawa fitoestrogen yang terkandung di dalam tanaman antara lain flavonoid, coumestan, lignan, dan stilben (Lestari, 2014).

Beberapa penelitian mengajukan hipotesis bahwa fitoestrogen mengurangi risiko penyakit kardiovaskular, fraktur osteoporosis, gejala menopause dan mencegah kanker. Aktivitas fitoestrogen bergantung pada beberapa faktor, seperti bentuk pemberian, dosis, lama paparan, metabolisme individu dan substansi farmakologis lain (Xiang *et al.*, 1995)

## 2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat berkhasiat atau zat aktif dari bagian tanaman dengan pelarut yang sesuai. Tujuan ekstraksi adalah untuk mengambil senyawa kimia yang terdapat pada bahan ekstraksi. Ekstraksi berdasarkan perpindahan zat ke dalam pelarut yang sesuai (Depkes RI, 2000).

### 2.5.1 Ultrasonikasi

Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantu-an *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah *ultra-sonic* dan *ultrasound*. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi (Mukhriani, 2014).

## 2.6 Pascamenopause

Wanita pascamenopause mengalami defisiensi hormon estrogen dalam tubuhnya karena ovarium sudah tidak lagi memproduksi estrogen (Baziad, 1999). Kasus yang telah diketahui pascamenopause diantaranya adalah penyakit jantung koroner, penurunan daya ingat dan osteoporosis (Smith, 1993; Yaffe *et al.*, 2011; Fadma, 2014). Namun, kasus yang terbanyak dijumpai adalah osteoporosis (Siddapur *et al.*, 2015). Hal ini dapat terjadi karena defisiensi estrogen adalah faktor utama massa tulang berkurang pada wanita.

## 2.7 Tulang

### 2.7.1 Fisiologi Tulang

Secara garis besar tulang dibagi menjadi 2 yaitu tulang panjang dan tulang pipih. Bagian luar kedua tulang tersebut merupakan tulang padat, disebut korteks tulang. Sedangkan bagian dalamnya adalah bagian trabekular tulang yang terdiri dari lempengan tipis tersusun seperti bunga karang. Struktur tulang seperti ini merupakan jaringan tiga dimensi dengan konstruksi teknik yang luar biasa, sehingga dengan berat tulang yang ringan menjadikan tulang mempunyai kekuatan maksimal sehingga mampu menahan berat badan maupun beban yang lebih berat (Staub *et al.*, 1990; Riis, 1996)

Secara mikroskopis tulang dibedakan menjadi tulang *woven* dan tulang berlapis (*lamellar*). Tulang *woven* adalah bentuk tulang yang paling awal pada embrio dan selama pertumbuhannya terdiri dari jaringan kolagen berbentuk irregular. Setelah dewasa tulang ini diganti oleh tulang berlapis yang terdiri dari tulang korteks dan tulang trabekular (Staub *et al.*, 1990).

Tulang korteks jaringannya tersusun seperti osteon, yaitu suatu lapisan konsentris dari tulang yang dikelilingi oleh kanal dengan panjang >2 mm dan lebar 2 mm dimana di dalamnya terdapat osteosit (OST) dari paling sedikit sebuah pembuluh darah untuk nutrisi. Di tempat ini terjadi anastomosis pembuluh darah dari osteon yang lain, sehingga beberapa osteon saling berhubungan satu sama lain. Susunan ini dikenal sebagai system Haversian. Bagian tulang trabekular tidak mempunyai pembuluh darah dan memperoleh nutrisi dari permukaan. Susunan ini

menerangkan mengapa tulang trabekular paling tebal sekitar 200  $\mu\text{m}$ , jarak yang masih memperoleh nutrisi secara difusi (Staub *et al.*, 1990).

Tulang trabekular terdiri dari sub unit yang disebut unit tulang struktural (SUT) yang terpisah satu sama lain oleh lapisan semen. SUT yang berada di permukaan disebut unit tulang multi selular (MUT). SUT dan MUT ini dapat juga ditemukan dipermukaan sebelah dalam tulang korteks sehingga tampak seperti korteks tulang. Pada kedua tempat ini, yaitu bagian trabekular dan permukaan dalam korteks merupakan bagian yang paling rentan terhadap osteoporosis (Candra, 2000).

### 2.7.2 Komposisi Tulang

Unsur-unsur yang membentuk tulang adalah:

- a. Mineral ( $\pm 65\%$ )
- b. Matriks ( $\pm 35\%$ )
- c. Sel-sel osteoblas (OBL), osteoklas (OKL) dan osteosit (OST)
- d. Air

Dilihat dari berat tulang, diperkirakan 65% jaringan tulang terdiri dari mineral bahan anorganis, air 5-8% dan sisanya terdiri dari bahan organis atau matriks ekstra selular. 95% mineral merupakan Kristal hidroksiapati dan sisanya 5% terdiri dari bahan anorganis. 98% dari bahan organis mengandung kolagen tipe I dan sisanya 2% terdiri dari beberapa protein non kolagen (Staub *et al.*, 1990).

### 2.7.3 Sel Tulang

Sel tulang terdiri dari osteoblas, osteoklas dan osteosit seperti berikut:

a. Osteoblas (OBL)

OBL berasal dari sel primitif mesenkim yang membentuk matriks tulang dan ditemukan pada daerah cekungan erosi setelah terjadinya proses resorpsi tulang. OBL berperan dengan mensekresi kolagen untuk membentuk matriks nonmineral yang disebut osteoid dengan kepadatan 6-10  $\mu\text{m}$ . Osteoid merupakan jaringan *preosseous* yang terdiri dari kolagen dan sejumlah protein tulang termasuk osteoklasin. Dibawah kendali dari OBL, osteoid menjadi matur dalam waktu 5-10 hari diikuti dengan deposisi dari Kristal hidroksiapatit (Riis, 1996).

OBL adalah sel yang berinti tunggal, terdapat di permukaan luar dan dalam tulang. Dalam keadaan aktif sel OBL berbentuk kuboid dan dalam keadaan tidak aktif berbentuk pipih. Biasanya OBL yang aktif ditemukan diantara matriks sesudah mensintesis tulang diawali dengan proses mineralisasi dan terjadinya pembentukan Kristal. Awal mineralisasi berarti kalsifikasi awal yang biasanya bergerak 5-10 nm dari permukaan OBL. Fungsi OBL adalah formasi tulang yang dipengaruhi oleh faktor lokal maupun sistemik. Faktor lokal meningkatkan formasi tulang : *BMP*, *TGF $\beta$* , *IGF*, estrogen, *triiodothyronin* ( $T_3$ ), *tetraiodothyronin* ( $T_4$ ), kalsitriol, prostaglandin E2 (PGE2) (Riis, 1996).

Faktor system yang meningkatkan formasi tulang adalah fluoride, *parathyroid hormone* (*PTH*) dan prostaglandin, sedangkan faktor system yang menghambat formasi tulang adalah hormon kortikosteroid. Saat menjalankan fungsinya, OBL juga memproduksi enzim alkali fosfatase yang mempunyai

sifat spesifik dibandingkan dengan alkali fosfatase yang dihasilkan jaringan lainnya dengan membebaskan protein nonkolagen osteokalsin dalam pembentukan tulang. Aktivitas OBL dapat dipantau secara biokimia dengan menilai kadar enzim alkali fosfatase tulang dan osteokalsin serum. Dalam perkembangan penelitian selanjutnya telah ditemukan reseptor estrogen dan reseptor kalsitriol di OBL (Riis, 1996).

b. Osteoklas (OKL)

Sel OKL adalah sel yang berada pada permukaan korteks atau tulang trabekular, berukuran besar dengan diameter 20-100  $\mu\text{m}$  dan berinti banyak (10-20 inti). Sel ini ditemukan pada permukaan tulang yang mengalami resorpsi, dimana kemudian membentuk cekungan yang dikenal sebagai lakuma dari *Howship*. Sitoplasma dari OKL terdiri dari enzim lisosom yang disekresi pada permukaan tulang dimana kemudian menyebabkan resorpsi tulang (Riis, 1996).

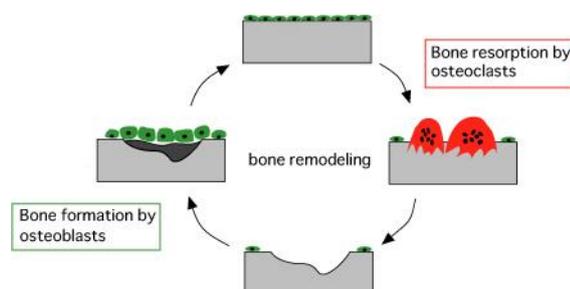
OKL meningkat jumlah dan aktivitasnya karena adanya hormon paratiroid (PTH), *parathyroid hormone related protein (PTHrp)*, *1,25-vitamin D*, *lymphotocin (LT)*, *alpha transforming growth factor ( $\alpha$  TGF)*, *beta tumor necrosis factor ( $\beta$  TNF)*, *IL1*, *IL6* dan *IL11*. Sedangkan yang menurunkan aktivitas dan jumlahnya dengan kalsitonin, estrogen,  $\beta$  TGF, *gamma interferon ( $\gamma$  IFN)* dan PGE2. Dalam proses peningkatan dan penghambatan aktivitas OKL, beberapa sitokin diproduksi oleh OBL sehingga dapat dikatakan terdapat poros OBL-OKL dalam pengendalian densitas tulang.

Dibutuhkan 100-150 OBL untuk membentuk sejumlah tulang yang dapat menahan terjadinya patah tulang karena aktivitas satu OKL (Riis, 1996).

c. Osteosit (OST)

OST berasal dari sel OBL yang berhenti membentuk matriks tulang dan tersimpan di dalam tulang. Hanya 10-12% OBL yang menjadi OST, dimana hal ini disebabkan oleh kegagalan difusi nutrisi. Sumber satu-satunya nutrisi dan pertukaran gas terbentuk setelah OST masuk melalui kanalikuli yang berasal dari bekas proses seluler yang memanjang selama OBL membentuk mineralisasi tulang. Kanalikuli berbentuk seperti tubulus penghubung yang diduga sebagai unsur untuk komunikasi dan nutrisi (Candra, 2000). OST diperkirakan dapat menjawab mekanisme rangsang gaya mekanik dengan memicu dikeluarkan IGF 1 dan menyebabkan OBL tidak aktif menjadi OBL aktif dan merangsang juga pembentukan OBL baru (Candra, 2000).

Ketiga sel tulang diatas secara terus menerus membentuk suatu proses remodelling tulang sehingga tulang terus terbarui. Gambaran proses remodelling tulang secara ringkas dapat dijelaskan pada gambar 2.5, dimana osteoklas menjadi aktor dalam proses resorpsi tulang dan osteoblas menjadi aktor dalam proses formasi tulang.



**Gambar 2.5 Proses remodelling tulang**

Proses *remodeling* tulang dibagi menjadi beberapa fase, yaitu (O'Connell, 2008):

1. Aktivasi: pre-osteoklas terstimulasi menjadi osteoklas dewasa yang aktif.  
Pada fase ini RANKL yang dihasilkan oleh prekursor osteoblas berikatan dengan reseptor yang ada pada permukaan prekursor osteoklas yaitu RANK, kemudian terbentuk sel osteoklas yang matang dan aktif
2. Resorpsi: osteoklas mencerna matriks tulang tua
3. Pembalikan: akhir dari proses resorpsi, saat osteoklas digantikan oleh osteoblas. Pada fase ini, setelah tulang selesai diresorpsi dan terbentuk rongga pada tulang maka dilepaskan sitokin-sitokin dan *growth factors* yang merupakan osteoblas dewasa pertama dari *mesenchymal stem cells* yang kemudian menstimulasi pembentukan sel osteoblas
4. Pembentukan: osteoblas menghasilkan matriks tulang yang baru
5. Fase pasif: osteoblas selesai menghasilkan matriks dan terbenam di dalamnya. Beberapa osteoblas membentuk sederet sel yang berjejer di permukaan tulang yang baru

## 2.8 Osteoporosis

### 2.8.1 Pengertian Osteoporosis

Osteoporosis adalah penyakit pada tulang yang ditandai oleh rendahnya massa tulang, menurunnya jaringan kecil arsitektur pada jaringan tulang sehingga menyebabkan tulang menjadi rapuh dan meningkatkan risiko patah tulang. Pada wanita pascamenopause, osteoporosis biasanya akibat dari kekurangan estrogen; sedangkan pada usia tua pada pria dan wanita kekurangan vitamin D dan hiperparatiroid sekunder berpotensi pada keroposnya tulang (Ferrary, 2012).

Berdasarkan penyebabnya, osteoporosis dibagi menjadi 2 yaitu osteoporosis primer dan osteoporosis sekunder. Hasil hilangnya tulang yang berhubungan dengan penurunan fungsi gonad seiring bertambahnya usia disebut sebagai osteoporosis primer. Sedangkan osteoporosis sekunder merupakan hasil dari penyakit kronik, paparan radiasi atau karena kekurangan nutrisi (Sweet *et al.*, 2009). Menurut Duque, Gustavo dan Troen, B. R. (2009), osteoporosis pascamenopause sebagai osteoporosis tipe I, terjadi pada wanita usia antara 51 tahun dan 75 tahun serta telah mengalami menopause akibat kekurangan estrogen. Osteoporosis bisa terjadi pada laki-laki maupun perempuan tetapi memiliki patofisiologi berbeda. Mengenai risiko terjatuh dan menyebabkan patah tulang harus hati-hati terhadap pasien lansia. Tetapi hal ini belum bisa menjadi penyebab dari osteoporosis (Febianty, 2016).

## **2.8.2 Patofisiologi Osteoporosis**

### **2.8.2.1 Osteoporosis pada Wanita Pascamenopause**

Pada wanita pascamenopause akan mengalami defisiensi hormon estrogen dalam tubuhnya karena ovarium sudah tidak lagi memproduksi estrogen (Baziad, 1999). Ketika tingkat estrogen (estradiol dan setron) turun, siklus remodeling tulang berubah dan pengurangan jaringan tulang dimulai. Salah satu fungsi estrogen adalah mempertahankan tingkat remodeling tulang normal. Ketika tingkat estrogen turun, tingkat resorpsi tulang menjadi lebih tinggi daripada formasi tulang, yang mengakibatkan berkurangnya massa tulang. Yang sangat berpengaruh dengan kondisi ini adalah tulang trabekular karena sangat rentan terhadap defisiensi estrogen dan tingkat *turnover*-nya yang tinggi (Lane, 2001).

Kehilangan estrogen memicu abnormalitas kualitatif, yakni erosi osteoklas yang lebih dalam dibandingkan kavitas normal. Dalamnya erosi dapat diterangkan bahwa estrogen beraksi pada osteoklas matur berupa dukungan terhadap apoptosis sehingga defisiensi estrogen menyebabkan perpanjangan daya kerja osteoklas. Estrogen memicu apoptosis osteoklas dua sampai tiga kali lipat pada *in vivo* dan *in vitro* yang efeknya diperantarai oleh TGF- $\beta$ . Secara langsung berkebalikan dengan efek tersebut, estrogen berperan sebagai antiapoptosis pada osteoblas dan osteosit, sehingga defisiensi estrogen akan memperpendek daya hidup osteoblas dan osteosit (Manolagas, 2000).

#### **2.8.2.2 Osteoporosis Akibat Penggunaan Obat-obatan**

Penyebab utama lainnya dari osteoporosis yang disebabkan oleh obat-obatan adalah penggunaan steroid. Steroid merupakan obat terbaik yang dimiliki untuk membalikkan reaksi peradangan, kebanyakan penderita harus menggunakan steroid secara teratur untuk mengontrol penyakitnya. Akan tetapi, walaupun steroid membantu mengontrol penyakit dan menyelamatkan nyawa penderita, obat ini juga memiliki efek lain terhadap tubuh, khususnya tulang (Lane, 2001). Pengaruh penggunaan obat kortikosteroid pada proses remodelling tulang utamanya terjadi pada tingkat ketahanan osteoklas dan osteoblas, osteoklas menjadi lebih kuat dan osteoblas sebaliknya, sehingga tingkat resorpsi tulang akan lebih tinggi dibanding formasinya (Noor, 2014).

Pada keadaan osteoporosis, kerusakan mikro arsitektur jaringan tulang berhubungan erat dengan proses remodeling tulang yaitu terjadinya abnormalitas *turnover* tulang. Pada remodeling tulang, proses yang terjadi diantaranya yaitu

penyerapan tulang oleh sel osteoklas dan pembentukan tulang oleh sel osteoblas. Pada keadaan osteoporosis terjadi ketidakseimbangan antara osteoklas dan osteoblas atau dengan kata lain terjadi abnormalitas *turnover* tulang dimana proses penyerapan lebih dominan kemudian akan mengakibatkan penurunan massa tulang (Meeta, 2013).

Penggunaan obat glukokortikoid seperti deksametason apabila dilakukan dalam waktu yang lama dapat menurunkan estrogen secara terus-menerus yang memicu defisiensi estrogen. Proses yang terjadi cukup rumit. Obat ini secara langsung menyebabkan supresi hipofisis, kondisi ini akan berpengaruh pada produksi estrogen dalam tubuh karena kelenjar hipofisis anterior mensekresi hormon gonadotropin *lutensizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH) dimana LH menstimulir produksi androgen (prekursor estrogen) dan FSH menstimulasi perkembangan folikuler seperti *folikel de Graff* (GF) yang akan mensekresikan estrogen (Lane, 1999; Hernawati, 2012). Jika supresi hipofisis oleh glukokortikoid terjadi, maka tubuh dimungkinkan tidak bisa memproduksi estrogen atau mengalami penurunan dalam produksinya.

Penurunan estrogen memicu peningkatan *Receptor Activator of NuclearFactor- $k\beta$*  (RANK), sedangkan *Osteoprotegerin* (OPG) mengalami penurunan. Ketika tubuh kekurangan estrogen maka akan terjadi ikatan antara *Receptor Activator of Nuclear Factor- $k\beta$  Ligand* (RANKL) dengan RANK. Apabila ikatan RANKL-RANK terbentuk pada proses *remodeling* tulang maka akan menghasilkan faktor osteoklastogenik *Nuclear Factor of Activated T Cell 1* (NFATC1) yang merupakan prekursor atau calon osteoklas. (Meeta, 2013).

OPG merupakan salah satu reseptor TNF yang yang diperlukan untuk mengimbangi proses osteoklastogenesis. OPG bekerja dengan cara berikatan dengan RANKL. Ketika OPG berikatan dengan RANKL maka RANK tidak bisa berikatan dengan RANKL sehingga tidak akan terjadi osteoklastogenesis karena calon osteoklas tidak terbentuk. Jadi, apabila OPG mengalami penurunan maka akan terjadi abnormalitas *turnover* karena proses osteoklastogenesis tidak dapat diimbangi sehingga proses resorpsi tulang oleh osteoklas lebih dominan daripada proses formasi tulang oleh osteoblas. Hal tersebut mengakibatkan kondisi osteoporosis dengan penurunan massa tulang (Meeta, 2013).

### **2.8.3 Uji Aktivitas Peningkatan Kepadatan Tulang**

#### **2.8.3.1 Terapi Osteoporosis dengan Alendronat**

Penelitian menunjukkan bahwa Alendronat ini efektif untuk pencegahan maupun terapi osteoporosis dengan pemberian 10 mg sehari sekali dalam bentuk tablet. Tablet alendronat harus diminum dengan benar, yaitu meminumnya dengan air dalam keadaan perut kosong, setidaknya 30 menit sebelum makan. (Compston, 2002). Preparat ini meningkatkan massa tulang di semua tulang kerangka lebih banyak jika dibandingkan dengan obat antiresorptif lainnya dan mengurangi perombakan tulang lebih banyak (Cosman, 2009).

Efek samping yang ditimbulkan alendronat sangat sedikit. Pada saat obat ini pertama kali diperkenalkan, muncul beberapa kasus saat orang-orang meminum obat tersebut tanpa air yang cukup serta merebahkan diri sesudahnya. Tanpa air untuk mendorong pil melewati tenggorokan (saluran yang menghubungkan mulut dengan lambung) sampai ke dalam lambung, serta posisi

tubuh rebah yang membuat isi lambung (bersama pil yang larut) naik kembali ke tenggorokan obat tersebut dapat menyebabkan iritasi bahkan terkadang menyebabkan kerusakan atau luka pada tenggorokan. Sebagian pasien merasakan efek samping, seperti rasa panas dalam perut atau rasa tidak nyaman di perut bagian atas. Tidak diketahui hal ini terkait dengan kambuh dan redanya penyakit mual yang ada atau karena alendronat. Dalam studi tentang alendronat, penyakit mual sangat umum dan frekuensi terjadinya pada kelompok yang diberi plaseo dan yang diberi alendronat terlihat hampir sama, sehingga kemungkinan besar hal ini disebabkan oleh proses alami (Cosman, 2009).

#### **2.8.3.2 Pemeriksaan Tulang**

Perlakuan pada hewan coba dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok uji. Pemeriksaan tulang pada hewan coba dilakukan dengan menggunakan pewarnaan HE (Hematoksilin dan Eosin). Pewarnaan HE akan memberikan keseimbangan warna biru dan merah dengan jelas pada jaringan, sehingga komponen sel dapat diidentifikasi dengan jelas. Persyaratan dalam melakukan pengambilan sampel jika jaringan berupa tulang pada pewarnaan ini yaitu dilunakkan terlebih dahulu dalam larutan dekalsifikasi dengan perbandingan antara jaringan dan larutan 1:20 dengan waktu perendaman selama 24 jam. Larutan dekalsifikasi yaitu larutan yang berfungsi untuk menghilangkan garam-garam kalsium dari jaringan tulang sehingga tulang menjadi lunak dan memudahkan pemotongan (Muntiha, 2001).

Pemeriksaan histopatologi diawali dengan pemeriksaan preparat histologi dibawah mikroskop yang dihubungkan pada suatu komputer dan software *image*

*raster*. Gambaran histopatologi yang diamati meliputi kepadatan tulang, kemudian dilakukan perhitungan kepadatan pada tulang. Pengukuran rata-rata kepadatan trabekular dilakukan pada daerah metafisis dekat dengan garis epifisis yaitu dengan cara menghitung luas area tulang trabekular dan luas keseluruhan tulang, kemudian menghitung persentase luas tulang trabekular terhadap luas tulang seluruhnya. Pengukuran dilakukan menggunakan software yaitu *image raster* (Muntiha, 2001).

## 2.9 Hewan Coba *Mus Musculus*

Nama latin mencit adalah *Mus musculus* yang dapat dikasifikasikan sebagai berikut (Akbar, 2013):

Kingdom: Animalia

Filum : Chordata

Subfilum: Vertebrata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Famili : Muridae

Genus : *Mus*

Spesies: *Mus musculus* L

Mencit dipilih menjadi subyek eksperimental sebagai bentuk relevansinya pada manusia. Walaupun mencit mempunyai struktur fisik dan anatomi yang jelas berbeda dengan manusia, tetapi mencit adalah hewan mamalia yang mempunyai beberapa ciri fisiologi dan biokimia yang hampir menyerupai manusia (Syahrin, 2006).

Mencit secara umum dapat digunakan sebagai pengganti dari subjek diinginkan, sebagai model dalam penelitian biomedis, sebagai instrumen untuk mengukur suatu besaran kualitas atau kuantitas biologis (uji biologis) dan sebagai penghasil produk-produk biologi (Setijono, 1985).

Data biologis mencit di laboratorium seperti tertera pada Tabel 2.1

**Tabel 2.1** Data biologis mencit di laboratorium (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988)

Lama hidup	1-2 tahun, bisa sampai 3 tahun
Lama bunting	19-21 hari
Umur disapih	21 hari
Umur dewasa	35 hari
Umur dikawinkan	8 minggu (jantan dan betina)
Berat dewasa	20-40 gr jantan; 18-35 gr betina
Berat lahir	0,5-0,1 gram
Jumlah anak	Rata-rata 6 bisa 15
Suhu (rektal)	36-39°C (rata-rata 37,9°C)
Volume darah	75-80 ml/kg
Sel darah merah	7,7-12,5x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Sel darah putih	6,0-12,6x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Trombosit	150-400x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
Hb	13-16/100ml
Kecepatan tumbuh	1 gr/hari

Adapun skeleton mencit normal terdiri atas:

1. Ekstrimitas anterior dan posterior yang meliputi 5 digiti pada metakarpus dan metatarsus

2. Vertebrae, yang terdiri atas 7 vertebrae cervicalis, 13 vertebrae thoracalis, 6 vertebrae lumbalis, 4 vertebrae sacralis, dan vertebrae caudales
3. Sternum, terdiri atas manubrium sterni, corpus sterni (gladiolus), dan processus xiphoid (xiphisternum)
4. Costae, terdiri atas 7 pasang rusuk sejati (costae verae), 3 pasang rusuk palsu (costae spuriae), dan 2 pasang rusuk melayang (costae fluctuates)

### 2.10 Manfaat Tanaman Dalam Alquran

Alquran sebagai kitab suci yang digunakan oleh penganut agama Islam tidak hanya sebagai suatu buku pedoman petunjuk teknis pelaksanaan ritual keagamaan, tetapi juga digunakan sebagai pedoman segala hal terkait kehidupan yang ada. Pembahasan dalam Alquran selain berisi amanat untuk berperilaku baik banyak pula ayat-ayat yang membahas tentang keilmuan yang baru dapat dibuktikan oleh manusia akhir-akhir ini. Hal ini terjadi seiring berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi sehingga manusia dapat menemukan beberapa peralatan modern yang dapat membuktikan kebenaran beberapa ayat Alquran.

Diantara informasi dalam Alquran yang dapat diterjemahkan oleh manusia akhir-akhir ini adalah pengetahuan tentang kandungan obat dalam tanaman. Salah satu ayat Alquran yang menjelaskan adanya manfaat dalam tanaman adalah surat Al-Anam ayat 99.

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

yang artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari

mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan kami keluarkan zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah, dan (perhatikan pula) kematangannya. Sesungguhnya, pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.”.

Tafsir jalalain menjelaskan tafsiran dari ayat tersebut diatas sebagai berikut:

“(Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan) dalam ayat ini terkandung *iltifat* dari orang yang ketiga menjadi pembicara (dengan air itu) yakni dengan air hujan itu (segala macam tumbuh-tumbuhan) yang dapat tumbuh (maka Kami keluarkan darinya) dari tumbuh-tumbuhan itu sesuatu (tanaman yang hijau) yang menghijau (Kami keluarkan darinya) dari tanaman yang menghijau itu (butir yang banyak) yang satu sama lainnya bersusun seperti bulir-bulir gandum dan sejenisnya (dan dari pohon kurma) menjadi *khobar* dan dijadikan sebagai *mubdal minhu* (yaitu dari mayangnya) yaitu dari pucuk pohonnya; dan *mubtadanya* ialah (keluar tangkai-tangkainya) tunas-tunas buahnya (yang mengurai) saling berdekatan antara yang satu dengan yang lainnya (dan Kami tumbuhkan berkat air hujan itu (kebun-kebun) tanaman-tanaman (anggur, zaitun dan delima yang serupa) dedaunannya; menjadi hal (dan yang tidak serupa) buahnya (perhatikanlah) hai orang-orang yang diajak bicara dengan perhatian yang disertai pemikiran dan pertimbangan (buahnya) dengan dibaca *fathah* huruf *t* dan huruf *mimnya*, atau dibaca *dhammah* keduanya sebagai kata jamak dari *tsamrah*; perihalnya sama dengan kata *syajaratun* jamaknya *syajarun*, dan *khasyabatun* jamaknya *khasyabun* (di waktu pohonnya berbuah) pada awal munculnya buah; bagaimana keadaannya? (dan) kepada (kematangannya) artinya kemasakannya, yaitu apabila telah masak; bagaimana keadaannya. (Sesungguhnya

yang demikian itu ada tanda-tanda) yang menunjukkan kepada kekuasaan Allah swt. dalam menghidupkan kembali yang telah mati dan lain sebagainya (bagi orang-orang yang beriman) mereka disebut secara khusus sebab hanya merekalah yang dapat memanfaatkan hal ini untuk keimanan mereka, berbeda dengan orang-orang kafir” (Tafsir jalalain, 2001).

Penjelasan serupa juga disampaikan dalam tafsir Ibnu Katsir dengan penjelasan lebih terperinci perkata sebagaimana berikut: Firman-Nya: *wa huwal ladzii anzala minas samaa-i maa-an* (“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit.”) maksudnya dengan kadarnya tertentu yang menjadi berkah dan rizki bagi makhluk, serta sebagai rahmat Allah bagi seluruh makhluk-Nya. *Fa akhrajabiHii nabaata kulli syai-in fa akhrajnaa minhu khadliran* (“Lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau.”) Yaitu, tanaman-tanaman dan pepohonan yang hijau, dan setelah itu kami menciptakan di dalamnya biji-bijian dan buah-buahan. Oleh karena itu Allah berfirman: *nukhriju minhu habbammutaraakiban* (“Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang tersusun.”) maksudnya tersusun antara satu dengan yang lainnya, seperti bulir [misalnya pada padi], dan yang lainnya. *Wa minan nakhli min thal’ihaa qinwaanun* (“Dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai.”) kata “*qinwaanun*” merupakan jamak dari kata “*qinwun*” yang berarti tandan kurma *Daaniyatun* (“yang menjulai”) maksudnya mudah dipetik bagi yang memetiknya. Sebagaimana yang dikatakan `Ali bin Abi Thalhah al-Walibi, dari Ibnu `Abbas: *qinwaanun daaniyatun*; yang dimaksud dengannya adalah pohon

kurma yang pendek yang tandannya menyentuh ke tanah.” (Diriwayatkan oleh Ibnu Jarir) Ia (Ibnu Jarir) mengatakan: “*qinwaanun*” merupakan jamak dari kata “*qinwun*” sebagaimana kata “*sinwaanun*” adalah jamak dari kata “*sinwun*”. Firman-Nya lebih lanjut: *wa jannaatim min a’naab* (“Dan kebun-kebun anggur.”) Maksudnya, Kami juga mengeluarkan darinya kebun-kebun anggur. Kedua jenis buah itu (anggur dan kurma) merupakan jenis yang paling berharga bagi penduduk Hijaz, bahkan mungkin merupakan dua jenis buah terbaik di dunia. Sebagaimana Allah telah memberikan anugerah kepada hamba-hamba-Nya berupa kedua macam buah tersebut dalam firman-Nya yang artinya: “Dan dari buah kurma dan anggur, kamu buat minuman yang memabukkan dan rizki yang baik.” (QS. An-Nahl: 67). Hal itu terjadi sebelum pengharaman khamr. Firman-Nya lebih lanjut: *waz zaituuna war rummaana musytabihan wa ghaira mutasyaabihin* (“Dan [Kami keluarkan Pula] zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa.”) Qatadah dan ulama lainnya mengatakan: “Yaitu kesamaan dalam daun dan bentuk, di mana masing-masing saling berdekatan, tetapi mempunyai perbedaan pada buahnya, baik bentuk, rasa, maupun sifatnya.” Firman-Nya: *undhuruu ilaa tsamarihi idzaa atsmara wa yan’ihi* (“Perhatikanlah buahnya pada waktu pohonnya berbuah, dan [perhatikan pulalah] kematangannya.”) Al-Barra’ bin `Azib, Ibnu `Abbas, adh-Dhahhak, `Atha’ al-Khurasani, as-Suddi, Qatadah, dan ulama lainnya mengatakan: “Maksudnya, pikirkanlah kekuasaan penciptanya, dari tidak ada menjadi ada, setelah sebelumnya berupa sebuah kayu (pohon), kemudian menjadi anggur dan kurma dan lain sebagainya, dari berbagai ciptaan Allah berupa berbagai warna, bentuk,

rasa, dan aroma.” Oleh karena itu, di sini Allah berfirman: *inna fii dzaalikum* (“Sesungguhnya pada yang demikian itu,”) hai sekalian umat manusia. *La aayaatin* (“ada tanda-tanda”) yaitu bukti-bukti kesempurnaan kekuasaan Penciptanya, hikmah, dan rahmat-Nya. *Liqaumiy yu’minuun* (“Bagi orang-orang yang beriman.”) Maksudnya, mereka yang membenarkan-Nya dan mengikuti para Rasul-Nya (Tafsir Ibnu Katsir, 2004).

Sedangkan dalam tafsir lain, Quraisy Sihab menjelaskan makna sekaligus tafsir dari ayat tersebut di atas dengan penjelasan yang lebih modern sesuai dengan perkembangan zaman saat ini. Ayat tentang tumbuh-tumbuhan ini menerangkan proses penciptaan buah yang tumbuh dan berkembang melalui beberapa fase, hingga sampai pada fase kematangan. Pada saat mencapai fase kematangan itu, suatu jenis buah mengandung komposisi zat gula, minyak, protein, berbagai zat karbohidrat dan zat tepung. Semua itu terbentuk atas bantuan cahaya matahari yang masuk melalui klorofil yang pada umumnya terdapat pada bagian pohon yang berwarna hijau, terutama pada daun. Daun itu ibarat pabrik yang mengolah komposisi zat-zat tadi untuk didistribusikan ke bagian-bagian pohon yang lain, termasuk biji dan buah. Lebih dari itu, ayat ini menerangkan bahwa air hujan adalah sumber air bersih satu-satunya bagi tanah. Sedangkan matahari adalah sumber semua kehidupan. Tetapi, hanya tumbuh-tumbuhan yang dapat menyimpan daya matahari itu dengan perantaraan klorofil, untuk kemudian menyerahkannya kepada manusia dan hewan dalam bentuk bahan makanan organik yang dibentuknya. Kemajuan ilmu pengetahuan telah dapat membuktikan kemahaesaan Allah. Zat hemoglobin yang diperlukan untuk pernapasan manusia

dan sejumlah besar jenis hewan, berkaitan erat sekali dengan zat hijau daun. Atom karbon, hidrogen, oksigen dan nitrogen, mengandung atom zat besi di dalam molekul hemoglobin. Hemoglobin itu sendiri mengandung atom magnesium dalam molekul klorofil. Di dunia kedokteran ditemukan bahwa klorofil, ketika diasimilasi oleh tubuh manusia, bercampur dengan sel-sel manusia. Percampuran itu kemudian memberikan tenaga dan kekuatan melawan bermacam bakteri penyakit. Dengan demikian, ia berfungsi sebagai benteng pertahanan tubuh dari serangan segala macam penyakit. Di bagian akhir ayat ini disebutkan "*Unzhurû ilâ tsamarihi idzâ atsmara wa yan'ih*" (amatilah buah- buahan yang dihasilkannya). Perintah ini mendorong perkembangan Ilmu Tumbuh-tumbuhan (Botanik) yang sampai saat ini mengandalkan metode pengamatan bentuk luar seluruh organnya dalam semua fase perkembangannya (Shihab, 2002).

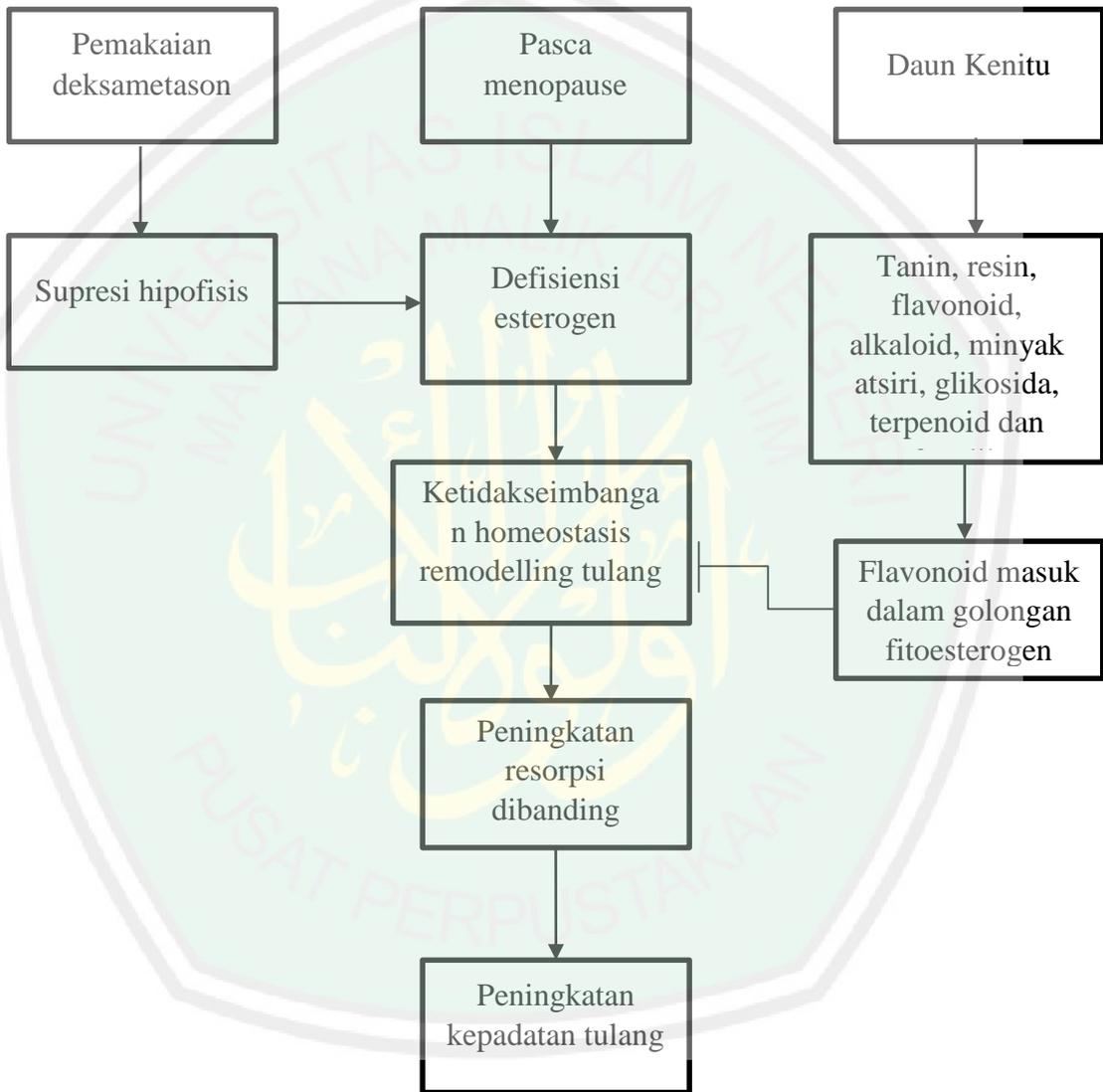
Berdasarkan penjelasan beberapa ulama tafsir diatas tentang makna surah Al-Anam ayat 99, dapat diambil beberapa poin penting yang perlu dikaji lebih mendalam. Pertama, adanya tanda kekuasaan Tuhan dalam penurunan air dari langit sebagai air bersih yang dapat dinikmati manusia juga dapat menjadi bahan utama dalam penumbuhan tanaman di bumi. Kedua, dari beberapa tanaman yang tumbuh di bumi dapat diambil pelajaran dari bagaimana tanaman itu tumbuh dan pertumbuhannya menghasilkkan berbagai macam bentuk tanaman yang berbeda mulai dari bentuk luarnya hingga kandungan metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Ketiga, Pengkajian terhadap kandungan tanaman yang memiliki masa panen sendiri-sendiri, dimana pada masa panen tertentu beberapa metabolit sekunder dari tanaman mencapai kuantitas maksimal sehingga dapat dimanfaatkan

sebaik mungkin. Keempat, dari semua yang telah dijelaskan oleh ayat ini terdapat ayat yang dapat dibaca oleh orang-orang yang beriman untuk menambah tingkat keimanannya.



**BAB III**  
**KERANGKA KONSEPTUAL**

**3.1 Kerangka Konsep**



Keterangan:

—|— Menghambat

—> mengandung, mengakibatkan

### 3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Pasca menopause yang terjadi pada wanita dapat mengakibatkan terjadinya defisiensi esterogen. Hal ini berakibat peningkatan disporpsi resorpsi tulang dibandingkan formasi tulang. Pada masa selanjutnya akan terjadi penurunan massa tulang secara signifikan pada wanita pasca menopause. Penurunan massa tulang ini dapat diartikan pula sebagai osteoporosis.

Selain akibat defisiensi esterogen yang terjadi pada wanita pasca menopause, osteoporosis dapat pula diakibatkan oleh penggunaan obat-obatan kortikosteroid, salah satunya deksametason. Efek samping penggunaan kortikosteroid memicu osteoklasitogenesis menurun hingga 50% , sedangkan jumlah osteoklas pada tulang meningkat dua kali lipat. Hal ini membuktikan bahwa efek penggunaan kortikosteroid adalah peningkatan osteoklas yang menyebabkan peningkatan disporpsi resorpsi tulang dibanding formasi tulang.

Daun kenit diketahui mengandung beberapa senyawa aktif yang salah satunya adalah flavonoid. Jenis flavonoid seperti isoflavon, memiliki aktivitas sebagai fitoestrogen yang memiliki manfaat sebagai pengganti hormon esterogen. Fitoestrogen banyak dimanfaatkan untuk pengobatan alternatif pada osteoporosis pasca menopause karena dapat mengurangi penurunan massa tulang.

Uji pada ekstrak etil asetat daun kenit dilakukan pada mencit betina untuk diketahui aktivitasnya sebagai fitoestrogen. Mencit diinduksi kortikosteroid untuk mengkondisikan mencit pada keadaan osteoporosis, kemudian diberi ekstrak etil asetat daun kenit dan dihitung kepadatan tulangnya untuk mengetahui aktivitas anti osteoporosis.

### 3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etil asetat daun kenitu dapat meningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebrata pada mencit betina yang diinduksi deksametason.



## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

##### **4.1.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratoris untuk mengetahui aktivitas antiosteoporosis dari ekstrak etil asetat daun *C.cainito*. Penelitian eksperimental laboratoris merupakan kegiatan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui suatu pengaruh yang timbul akibat adanya perlakuan tertentu (Notoatmojo, 2010).

##### **4.1.2 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian yang akan dilakukan terdiri atas penyiapan bahan, ekstraksi bahan dan uji aktivitas ekstrak etil asetat dalam meningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebra menciit betina yang diinduksi deksametason.

##### **1. Penyiapan bahan**

Bahan yang akan digunakan adalah daun *C. cainito*. Daun yang telah dikumpulkan disortasi basah dan dilakukan pencucian dengan air mengalir. Setelah tahap pencucian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dibawah sinar matahari secara tidak langsung hingga diperoleh simplisia kering. Simplisia kering kemudian digiling sehingga diperoleh serbuk yang halus. Serbuk simplisia kemudian disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya untuk mencegah kerusakan dan penurunan mutu.

## 2. Ekstraksi bahan

Serbuk daun *C. cainito* 250 gram dimaserasi dan ultrasonikasi dengan pelarut etil asetat hingga tidak didapatkan lagi senyawa flavonoid dalam ekstrak, hal ini dapat diketahui dengan uji KLT pada larutan menggunakan fase gerak H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%. Ekstrak etil asetat yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

## 3. Uji aktivitas peningkatan kepadatan tulang

Penentuan uji aktivitas peningkatan kepadatan tulang oleh ekstrak etil asetat daun *C. Cainito* dilakukan dengan menggunakan subyek penelitian mencit betina yang diinduksi dengan deksametason. Efek peningkatan kepadatan tulang pada penelitian ini ditentukan dengan mengukur persentase kepadatan tulang trabekular dari tulang vertebra secara mikroskopi. Pengukuran rata-rata persentase kepadatan trabekular dilakukan pada daerah metafisis dekat dengan garis epifisis yaitu dengan cara menghitung luas area tulang trabekular dan luas keseluruhan tulang hingga didapat persentase luas tulang trabekular dari total luas keseluruhan tulang. Pengukuran dilakukan menggunakan software yaitu *image raster*.

### 4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Hewan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Penelitian dimulai pada bulan september 2017.

### 4.3 Sampel Penelitian

#### 4.3.1 Sampel Tanaman

Sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah simplisia daun *C. cainito* yang diperoleh dari Balai Materia Medika Kota Batu, Jawa Timur.

#### 4.3.2 Sampel Hewan Coba

Sampel hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) betina yang diperoleh dari Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Mencit yang digunakan berumur 70-80 hari dengan kondisi badan yang sehat secara pengamatan visual, mempunyai berat badan antara 20-30 gram.

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini dihitung menurut rumus Federer (Federer, 1991):

$$(t-1)(r-1) \leq 15$$

dimana  $t$  = banyaknya grup perlakuan

$r$  = jumlah replikasi/pengulangan

Pada penelitian ini terdapat 5 jenis kelompok perlakuan sehingga,  $t = 5$  dan jumlah sampel yang diperlukan dalam satu grup yaitu:

$$(5-1)(r-1) \leq 15$$

$$r-1 \leq 15 : 4$$

$$r \leq 3,75 + 1$$

$$r \leq 4,75$$

Dari perhitungan di atas, didapatkan bahwa jumlah sampel untuk setiap grup adalah 5 ekor, sehingga total sampel yang diperlukan adalah 5 x 5, yaitu 25 ekor.

#### **4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional**

##### **4.4.1 Variabel Penelitian**

###### **4.4.1.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etil asetat daun kenitu.

###### **4.4.1.2 Variabel Kendali**

Jenis mencit (*Mus musculus*), jenis kelamin mencit (betina), umur mencit 70-80 hari, berat badan rata-rata 20-30 gram, jenis makanan dan minuman, kesehatan mencit, perawatan mencit dan sanitasi kandang, temperatur dan kelembaban kandang, waktu pemberian makan dan minum

###### **4.4.1.3 Variabel Tergantung**

Kepadatan tulang trabekular vertebra pada mencit betina yang diinduksi deksametason

##### **4.4.2 Definisi Operasional**

- Kepadatan tulang trabekular pada penelitian ini diamati secara histomorfometri yaitu pengukuran kepadatan dari tulang trabekular yang diperoleh dari rerata persentase (%) luas tulang trabekular terhadap luas tulang seluruhnya yang diambil dari tulang vertebra bagian thorak antara ruas ke X-XII hewan coba yang dihitung secara mikroskopi dengan menggunakan pewarnaan *Hematoksin-Eosin* (HE). Pengukuran rata-rata persentase luas tulang trabekular dilakukan pada daerah metafisis dekat dengan garis epifisis yaitu dengan cara mengukur luas trabekular di daerah

metafisis dan luas daerah pengukuran di sekitarnya. Pengukuran dilakukan menggunakan software yaitu *image raster*.

- Ekstrak etil asetat daun kenitu adalah ekstrak yang didapat dari maserasi daun kenitu menggunakan etil asetat dan metode ekstraksi menggunakan ultrasonikasi.
- *Hematoksilin-Eosin* (HE) adalah pewarnaan yang akan memberikan keseimbangan warna biru dan merah dengan jelas pada jaringan, sehingga komponen sel dapat diidentifikasi dengan jelas

#### **4.5 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **4.5.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah wadah maserat, cawan porselen untuk menimbang simplisia, timbangan digital, sendok tanduk, gelas ukur, pipet tetes, ultrasonikator, aluminium foil, corong gelas, erlenmeyer, *rotary evaporator*, gelas arloji, gelas ukur, sonde, mortir dan stamper, timbangan mencit, kandang mencit, mikroskop *boeco*, komputer dan software *image raster*.

##### **4.5.2 Bahan**

Sedangkan bahan-bahan yang digunakan antara lain simplisia daun *C. cainito* yang diperoleh dari Balai Materia Medika Batu, etil asetat, aquades, deksametason, alendronat, CMC Na 0,5% dan ekstrak kental daun daun *C. cainito*.

#### **4.6 Prosedur Penelitian**

##### **4.6.1 Prosedur Pembuatan Simplisia Daun *C. cainito***

Pembuatan simplisia daun *C. cainito* dilakukan dengan langkah sebagai berikut:

- a. Dikumpulkan daun *C. cainito* yang masih segar kemudian disortasi basah
- b. Dilakukan pencucian dengan air mengalir
- c. Dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dibawah sinar matahari secara tidak langsung hingga diperoleh simplisia kering
- d. Digiling simplisia kering sehingga diperoleh serbuk yang halus
- e. Disimpan serbuk simplisia di tempat yang terlindung dari cahaya untuk mencegah kerusakan dan penurunan mutu

#### **4.6.2 Prosedur Pembuatan Ekstrak Etil asetat Daun *C. cainito***

Ekstraksi daun *C. cainito* dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Langkah ekstraksi yang dilakukan sebagai berikut:

- a. Ditimbang simplisia daun *C. cainito* dengan timbangan digital sebanyak 100 gram
- b. Simplisia dimasukkan dalam wadah maserat sambil dibasahi dengan etil asetat sebanyak 500 mL sedikit demi sedikit hingga etil asetat masuk semua
- c. Diaduk menggunakan batang pengaduk selama 1 jam
- d. Didiamkan selama 24 jam
- e. Ultrasonikasi dilakukan sebanyak 3 kali dengan durasi pada setiap pengulangan 2 menit
- f. Disaring dan didiamkan filtratnya

- g. Filtrat yang telah terkumpul dimasukkan dalam labu *rotary evaporator*
- h. *Rotary evaporator* diatur pada suhu 50°C dengan kecepatan 70 rpm untuk menguapkan etil asetat
- i. Dioven hingga didapatkan ekstrak kental
- j. Ditungkup ekstrak kental dengan aluminium foil agar tidak terjadi kontaminasi dan pertumbuhan mikroba

#### 4.6.3 Pembuatan Bahan Uji

- a. Pembuatan musilago CMC-Na 0,5 %
  1. Ditimbang CMC-Na 0,5% sebanyak 500 mg, didispersikan CMC-Na merata diatas 10 ml aquadest panas, diamkan sampai mengembang ( $\pm$  15 menit), kemudian gerus hingga terbentuk suspensi homogen
  2. Dipindahkan ke labu ukur 100,0 ml
  3. Ditambahkan aquadest sampai tanda batas, kocok sampai homogen
  4. Diberikan suspensi kepada kelompok kontrol negatif sebanyak 0,2ml/20g mencit/hari secara peroral selama 4 minggu
- b. Pembuatan suspensi ekstrak etil asetat daun kenitu
  1. Ditimbang CMC-Na 0,5% sebanyak 500 mg, didispersikan CMC-Na merata diatas 10 ml aquadest panas, diamkan sampai mengembang ( $\pm$  15 menit), kemudian gerus hingga terbentuk suspensi homogen
  2. Ditimbang ekstrak seberat 280 mg, 560mg dan 1120mg
  3. Dicampur dengan suspensi CMC-Na, aduk sampai homogen
  4. Dipindahkan ke labu ukur 100 mL
  5. Ditambahkan aquadest sampai tanda batas, kocok sampai homogen

c. Pembuatan suspensi deksametason :

1. Ditimbang CMC-Na 0,5% sebanyak 2500 mg, CMC-Na didispersikan merata diatas 50 mL aquadest panas, aduk hingga terbentuk suspensi
2. Digerus 15 tablet Deksametason 0,5 mg, menimbang sesuai dosis yang diperlukan dan campur dengan suspensi CMC-Na, aduk sampai homogen
3. Dipindahkan ke labu ukur 500 mL
4. Ditambahkan aquadest sampai tepat tanda, kocok sampai homogen

d. Pembuatan suspensi alendronat

1. Ditimbang CMC-Na 0,5% sebanyak 500 mg, didispersikan CMC-Na merata diatas 10 mL aquadest panas, diamkan sampai mengembang ( $\pm$  15 menit), kemudian digerus hingga terbentuk suspensi homogen
2. Digerus 1 tablet alendronat 10 mg, ditimbang sebanyak 0,026 mg dan dicampur dengan suspensi CMC-Na, aduk sampai homogen
3. Dipindahkan ke labu ukur 100,0 mL
4. Ditambahkan aquadest sampai tanda batas, kocok sampai homogen
5. Diberikan suspensi kepada kelompok kontrol positif sebanyak 0,2 ml/20 g mencit/ hari secara peroral selama 4 minggu.

#### 4.6.4 Uji Aktivitas Antiosteoporosis Peningkatkan Kepadatan Tulang Vertebra Mencit Betina

##### 4.6.4.1 Prosedur Penyiapan Hewan Coba

Prosedur penyiapan hewan coba dilakukan seperti berikut:

- a. Dilakukan adaptasi lingkungan pada mencit (*Mus musculus*) betina selama 7 hari dalam kandang berupa bak plastik berukuran 29 (*p*) x 11 (*l*) x 12 (*t*) cm, dengan penutup dan diberi alas serbuk gergaji, suhu dan kelembaban lingkungan dikontrol sehingga membiasakan mencit hidup dalam lingkungan dan perlakuan baru serta membatasi pengaruh lingkungan.
- b. Diberi makan dan minum secukupnya
- c. Dilakukan pengamatan umum yaitu mencit yang tampak sakit tidak disertakan dalam penelitian. Tanda-tanda mencit sakit adalah aktivitas berkurang, banyak diam, serta bulu kusam (Hubrecht dan Kirkwood, 2010)
- d. Dibagi mencit sehat menjadi 5 kelompok, masing-masing diinduksi deksametason dengan dosis 0,0029 mg/20gBB sebanyak 0,71mL/20g mencit/hari secara peroral selama 4 minggu. Pembagian kelompok berdasarkan terapi yang diberikan:

Kelompok Kontrol Positif	Diinduksi suspensi alendronat sebanyak 0,71mL/20 g mencit/ hari secara peroral selama 28 hari
Kelompok Kontrol Negatif	Tidak diberikan terapi
Kelompok Uji 1	Diberikan suspensi ekstrak etil asetat daun kenitu dengan dosis 2mg/g mencit sebanyak 0,71mL/20g mencit/ hari secara peroral selama 28 hari
Kelompok Uji 2	Diberikan suspensi ekstrak etil asetat daun kenitu dengan dosis 4mg/g mencit sebanyak 0,71mL/20g mencit/ hari secara peroral selama 28 hari
Kelompok Uji 3	Diberikan suspensi ekstrak etil asetat daun kenitu dengan dosis 8mg/g mencit sebanyak 0,71mL/20g mencit/ hari secara peroral selama 28 hari

#### 4.6.4.2 Pengamatan Gambaran Histopatologi Tulang Mencit

Mencit dimatikan dengan cara dislokasi pada bagian leher kemudian dibedah dan diambil bagian tulang trabekular vertebra. Tulang yang telah diambil diawetkan dalam formalin buffer fosfat 10 %. Untuk mengetahui gambaran histopatologi dari tulang tersebut, maka dibuat preparat histologi di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan dilakukan pengamatan kepadatan tulang trabekular vertebra kemudian dibandingkan antar kelompok perlakuan.

#### 4.6.5 Penentuan Dosis

##### 4.6.5.1 Penentuan Dosis Deksametason

Bahan penginduksi osteoporosis yang digunakan adalah deksametason. Perhitungan dosis Deksametason (Laswati, 2015):

Dosis deksametason untuk manusia (70kg) = 1,125 mg/hari

Dosis deksametason untuk mencit (20 g) = 1,125 x 0,0026  
= 0,0029 mg/g mencit/hari

#### 4.6.5.2 Penentuan Dosis Alendronat

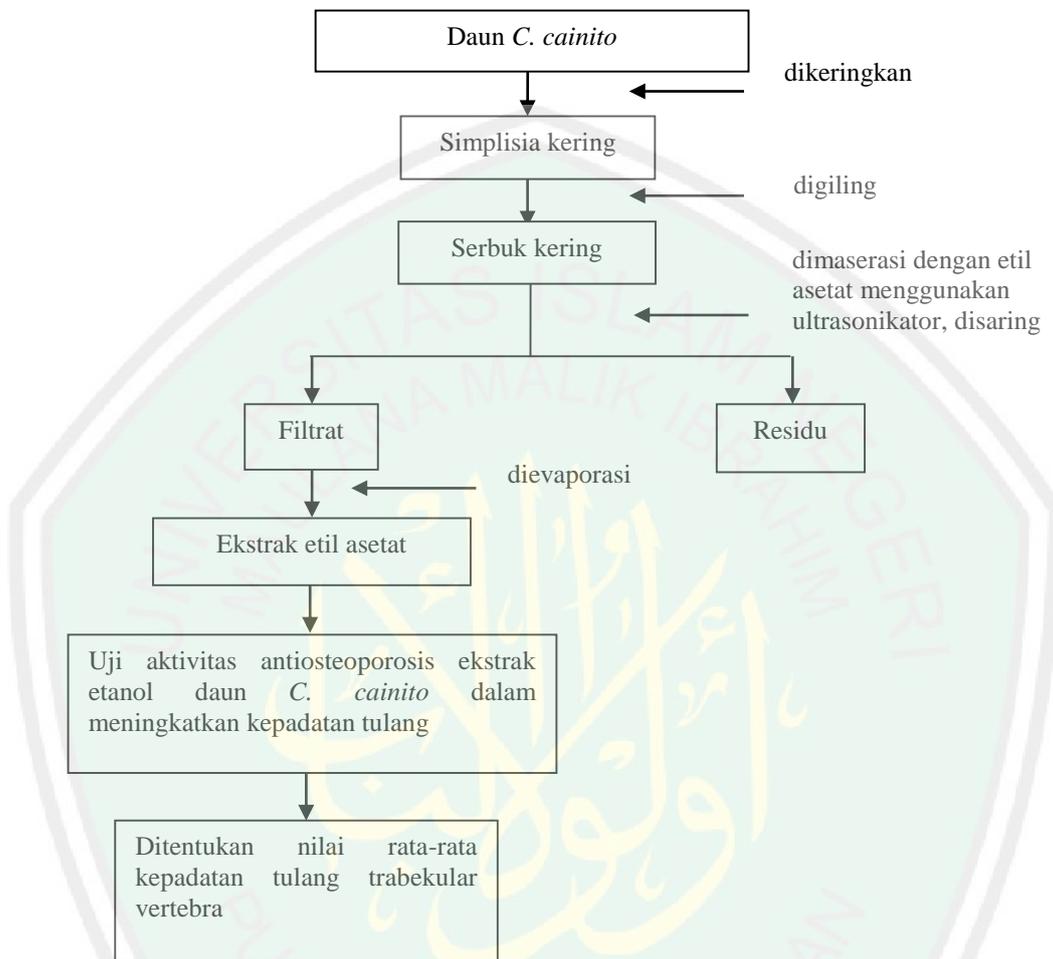
Dosis alendronat untuk manusia (70 kg) = 10 mg/hari

Dosis alendronat untuk mencit (20 g) = 10 mg x 0,0026  
= 0,026 mg/g mencit/hari

#### 4.6.5.3 Penentuan Dosis Ekstrak Etil Asetat Daun *C. cainito*

Penentuan dosis ekstrak etil asetat daun *C. cainito* yang akan diberikan pada mencit harus dihitung dengan konversi dosis dari manusia ke hewan uji. Konversi dosis untuk manusia ke mencit adalah 0,0026. Namun Perhitungan dosis yang digunakan mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Laswati (2015), yaitu dosis ekstrak etanol *spilanthus acmella* 4,14mg/20gBB yang telah memberikan efek pada kepadatan tulang.

#### 4.1 Skema Rancangan Penelitian



Gambar 4.2 Skema rancangan penelitian

#### 4.7 Analisis Statistika

Data nilai kepadatan tulang trabekular akan dicatat sebagai mean  $\pm$  SD. Untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan bermakna pada nilai kepadatan tulang trabekular antara kelompok ekstrak uji daun *C. cainito* dan kelompok kontrol, dilakukan uji *Analysis of variance (Anova) One Way* pada  $\alpha=0,05$ , dengan hipotesis sebagai berikut:

$H_0$  = tidak ada perbedaan nilai kepadatan trabekular antar kelompok

$H_a$  = ada perbedaan nilai kepadatan trabekular minimal satu pasang kelompok

Pengambilan kesimpulan diperoleh dari harga probabilitas ( $p$ ) pada  $\alpha = 0,05$ . Apabila  $p > 0,05$  maka  $H_0$  diterima dan  $H_a$  ditolak, sebaliknya bila  $p < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak dan  $H_a$  diterima.

Bila ada perbedaan yang bermakna maka uji statistik dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* untuk mengetahui adanya perbedaan dalam kelompok perlakuan.



## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Preparasi Simplisia Daun kenitu

Penelitian ini menggunakan sampel berupa daun *C.cainito* yang didapat dari Balai Materia Medika Kota Batu, Jawa Timur. Pemanenan terhadap sampel dilakukan pada daun yang bagian atasnya berwarna hijau dan bagian bawahnya berwarna hijau. Selanjutnya dilakukan proses disortasi dan pencucian menggunakan air mengalir untuk membersihkan daun dari kotoran. Daun yang sudah bersih kemudian dikeringkan menggunakan oven yang diatur suhunya sebesar 40°C. Suhu 40°C dipilih untuk mengurangi kadar air dalam daun dan mencegah tumbuhnya kapang serta menurunkan reaksi enzimatik yang dapat merusak simplisia namun tidak merusak kandungan kimia pada daun akibat suhu yang terlalu tinggi (Agoes, 2007; Laksana, 2010; Mamonto, 2014).

Daun yang telah kering kemudian digiling hingga berbentuk serbuk halus. Proses penggilingan ditujukan untuk memperluas permukaan daun sehingga mudah untuk diekstraksi karena terjadi kontak yang besar antar daun dan pelarut yang terjadi selama proses ekstraksi. Serbuk halus simplisia kemudian disimpan agar terhindar dari sinar matahari dan kelembaban yang dapat merusak simplisia. Penyimpanan dilakukan dengan membungkus simplisia dengan plastik dan diletakkan ditempat kering yang terhindar dari sinar matahari (Harbone, 1996; Laksana, 2010).

## 5.2 Pengukuran Nilai Kadar Air

Pengukuran nilai kadar air adalah uji yang dilaksanakan untuk mengetahui kadar air yang terkandung dalam simplisia yang diuji. Semakin kecil nilai kadar air suatu simplisia maka efektifitas penarikan senyawa aktif oleh pelarut semakin tinggi. Kadar air yang aman untuk suatu bahan kering adalah 10-12% dan kadar air yang baik adalah dibawah 10% (BPOM, 2002).

Hasil yang didapat dari pengukuran nilai kadar air terhadap simplisia kering daun *C. cainito* menggunakan *moisture content analyzer* adalah sebagaimana yang terdapat pada tabel 5.1. Rerata nilai kadar air yang didapat 6,84% yang mana nilai tersebut menunjukkan bahwa serbuk simplisia memiliki nilai kadar air yang baik yaitu dibawah 10%. Hal ini dapat dikarenakan oleh proses pengeringan yang optimal saat pembuatan simplisia.

**Tabel 5.1** Nilai kadar air simplisia kering daun *C. cainito*

Sampel	Replikasi	Kadar Air (%)	Rata-rata (%)
Simplisia kering daun <i>C. cainito</i>	1	6,75 %	6,84 %
	2	6,53 %	
	3	7,25 %	

## 5.3 Ekstraksi Daun *C. cainito*

Proses pembuatan ekstrak etil asetat daun kenitu dilakukan dengan menggunakan metode maserasi yang dilanjutkan dengan ultrasonik. Penggunaan metode ekstraksi ultrasonik ini dilakukan karena selain untuk mempercepat proses ekstraksi, metode ultrasonik merupakan salah satu upaya peningkatan efisiensi hasil ekstraksi dari metode-metode konvensional. Selain itu pemilihan metode

ultrasonik ini bertujuan untuk memperoleh hasil rendemen yang lebih besar daripada menggunakan metode ekstraksi tunggal.

Proses maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia dengan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:10 (b/v). Alasan pemilihan etil asetat sebagai pelarut yaitu aglikon yang kurang polar seperti isoflavon, flavanon, dan flavon lebih larut pada pelarut semi polar bahkan non polar dan salah satunya yaitu etil asetat. Selain itu, umumnya senyawa aktif dalam tumbuhan lebih banyak larut dalam pelarut semi polar (Markham, 1988). Proses ekstraksi dilakukan dengan cara merendam simplisia dan pelarut dalam wadah kaca dan diletakkan pada wadah ultrasonik selama 2 menit dengan 3 kali pengulangan pada setiap perlakuannya. Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk mendapatkan filtrat yang diinginkan. Penyaringan filtrat dilakukan dengan menggunakan kertas saring agar filtrat dapat dipisahkan dari residunya.

Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50<sup>0</sup>C, hal ini bertujuan agar dapat memekatkan ekstrak serta dapat memisahkan antara pelarut etil asetat dengan senyawa aktif dalam daun kenitu. Hal ini sesuai dengan literatur Vogel (1978), yang menyebutkan bahwa prinsip dari rotary evaporator adalah adanya penurunan tekanan dengan dipercepatnya putaran labu alas bulat sehingga pelarut segera menguap 5-10<sup>0</sup>C pada suhu dibawah titik pelarut.

Proses evaporasi dihentikan apabila pelarut sudah tidak lagi menetes lagi pada labu alas bulat. Setelah didapatkan ekstrak kental, rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat awal

kemudian dikalikan 100%. Rendemen digunakan sebagai salah satu parameter untuk mengetahui seberapa banyak ekstrak yang dihasilkan dari proses ekstraksi yang dinyatakan dengan perbandingan antara jumlah ekstrak yang dihasilkan dengan jumlah bahan yang digunakan (Warsono dkk, 2013).

**Tabel 5.2** Ekstraksi Daun *C. cainito*

<b>Jumlah Serbuk</b>	<b>Jumlah ekstrak</b>	<b>Jumlah Pelarut</b>	<b>Metode Ekstraksi</b>	<b>% Rendemen</b>
500 g	20,41 g	5000 ml (5 L)	Maserasi + ultrasonikasi	4,082 %

#### **5.4 Identifikasi Flavonoid**

Identifikasi flavonoid pada penelitian ini ditujukan untuk mengetahui keberadaan flavonoid, utamanya isoflavon sebagai senyawa yang diduga memiliki aktivitas estrogenik yang mampu meningkatkan kepadatan tulang trabekular pada hewan coba. Uji identifikasi flavonoid yang dilakukan adalah uji warna *Wilstater*. Hasil positif yang menunjukkan keberadaan flavonoid pada sampel adalah terjadinya perubahan warna setelah perlakuan menjadi jingga, merah atau biru.

Identifikasi flavonoid dengan uji warna dilakukan dalam dua perlakuan yakni menggunakan metanol dan etil asetat sebagai pelarut. Setelah dilarutkan kedua perlakuan ditambah 10 tetes HCL pekat dan serbuk Mg sebanyak kurang lebih 0,1 g. Kemudian dilakukan pengocokan pada larutan dan diamati perubahan warnanya. Dari kedua model perlakuan tersebut didapat hasil bahwa sampel positif flavonoid dengan adanya perubahan warna jingga pada pelarut metanol dan warna biru pada pelarut etil asetat sebagaimana pada gambar 5.1.

Magnesium dan asam klorida pada uji ini bereaksi membentuk gelembung udara yang merupakan gas  $H_2$ , kedua senyawa ini memiliki fungsi mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada flavonoid sehingga terjadi perubahan warna. Perubahan warna yang terjadi pada uji menunjukkan adanya flavonid pada sampel yang diuji (Taher, 2011).



**Gambar 5.1** (A) Uji flavonoid dengan metanol, (B) Uji flavonoid dengan etil aasetat

### 5.5 Uji Aktivitas Peningkatan Kepadatan Tulang Trabekular

Hewan coba pada penelitian ini dikondisikan menjadi osteoporosis dengan diinduksi deksametason dosis 0,0029mg/g BB satu kali sehari selama 4 minggu. Penggunaan deksametason selama 4 minggu pada mencit setara dengan penggunaan pada manusia selama 3-4 tahun (Manogalas, 2000 dalam Noor 2014; Brunton *ett al.*, 2005). Deksametason merupakan obat golongan kortikosteroid sintesis yang memiliki aktivitas glukokortikoid tinggi. Penggunaan obat yang memiliki aktifitas glukokortikoid dalam jangka waktu lebih dari 3-6 bulan menurut Kemenkes RI (2015) dapat mengakibatkan penghambatan dalam proses pembentukan pada osteoblas yang menyebabkan terjadinya osteoporosis.

Abnormalitas dalam proses remodelling tulang dimana osteoblas dan osteoklas mengalami keadaan tidak homeostasis menyebabkan kerusakan mikro arsitektur pada jaringan tulang. Pada osteoporosis osteoblas jumlahnya sedikit akibat produksinya terhambat dan osteoklas jumlahnya banyak karena tidak mengalami apoptosis secara normal. Keadaan tersebut menyebabkan formasi tulang menurun dan resorpsi meningkat (Meeta, 2013).

Osteoporosis akibat penggunaan obat glukokortikoid secara garis besar sama seperti osteoporosis yang disebabkan defisiensi estrogen. Obat-obatan glukokortikoid secara langsung menyebabkan supresi hipofisis dimana hipofisis anterior berperan mensekresi hormon gonadotropin *lutensizing hormone* (LH) dan *follicle stimulating hormone* (FSH). LH memiliki peran menstimulasi produksi androgen (prekursor estrogen) dan FSH menstimulasi perkembangan folikuler seperti *folikel de Graff* (GF) yang akan mensekresi estrogen (Lane, 1999; Hernawati, 2012). Penurunan produksi estrogen yang signifikan dapat mengganggu proses *remodelling* tulang dimana proses formasi menurun dan resorpsi meningkat (Meeta, 2013).

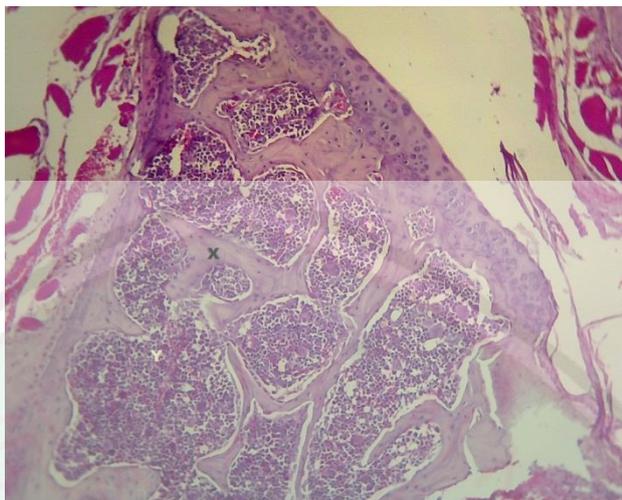
Mencit yang telah menerima perlakuan berupa induksi deksametason dapat diketahui bahwa telah mengalami osteoporosis secara visual dengan adanya kipotik pada mencit sebagaimana yang ada pada gambar 5.2. Kipotik merupakan keadaan tulang vertebra yang terlihat membungkuk ke depan (Fernandez, 2006; Meeta, 2013; Laswati, 2015).



**Gambar 5.2** Mencit normal (A) dan osteoporosis (B). Perubahan postur vertebra menjadi kipotik ditunjukkan oleh anak panah (←)

Hewan coba yang telah mengalami induksi deksametason selama 4 minggu dan tampak kipotik kemudian diberi perlakuan dengan lima macam perlakuan. Macam-macam perlakuan yang diberikan adalah pemberian alendronat sebagai kelompok kontrol positif, pemberian ekstrak dengan dosis 2 mg, 4 mg, 8mg dan pemberian CMC-Na sebagai kontrol negatif. Setelah 4 minggu, mencit dibedah dan diambil tulang vertebranya untuk didekalsifikasi dan dibuat preparat mikroskopis sehingga dapat dilakukan pemeriksaan histofotometri.

Pembuatan preparat histologi menggunakan teknik pengecatan Hemaktosilin dan Eosin (HE) dimana tulang trabekular (X) dan sumsum tulang (Y) ditunjukkan dengan berwarna yang berbeda. Adapun hasil pengamatan gambar histopatologi sebagai berikut:



**Gambar 5.3** Contoh hasil histofotometri

Pemeriksaan histofotometri dilakukan untuk mengetahui persentase kepadatan tulang trabekular terhadap total tulang seluruhnya. Rerata persentase dari setiap kelompok uji kemudian dibandingkan dengan kontrol negatif untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas dari ekstrak terhadap peningkatan kepadatan tulang trabekular. Hasil pemeriksaan histofotometri yang didapat adalah sebagaimana yang terdapat pada tabel 5.3 berikut.

**Tabel 5.3** Data rerata persentase kepadatan tulang tiap kelompok

Kelompok Uji	Rerata Persentase Kepadatan Tulang ( $\mu\text{m}$ )
Kelompok 1 (Terapi ekstrak etit asetat daun <i>C. cainito</i> 2 mg)	43,26%
Kelompok 2 (Terapi ekstrak etit asetat daun <i>C. cainito</i> 4 mg)	52,25%
Kelompok 3 (Terapi ekstrak etit asetat daun <i>C. cainito</i> 8 mg)	47,95%
Kelompok Positif (Kontrol positif terapi alendronat dosis 0,026 mg)	52,20%
Kelompok Negatif (Kontrol negatif tanpa terapi)	21,48%

## 5.6 Analisis Data

Analisis data terhadap hasil yang didapat dari pemeriksaan histofotometri dilakukan menggunakan metode ANOVA *one-way* dengan tingkat signifikansi atau kebermaknaan (*p-value*) 0,05 dan taraf kepercayaan ( $\alpha$ ) 95 % dari *software* IBM SPSS Statistic 20. ANOVA digunakan dengan syarat data memiliki nilai uji normalitas dan homogenitas *p-value* > 0,05.

Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* terhadap hasil pengukuran kepadatan tulang trabekular menunjukkan hasil sebagaimana pada tabel 5.4 berikut:

**Tabel 5.4** Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk*

Kelompok	Signifikansi
kelompok 1	0.408
kelompok 2	0.065
kelompok 3	0.540
Kelompok positif	0.686
kelompok negatif	0.486

Berdasarkan tabel 5.4 diperoleh nilai signifikansi pada kelima kelompok lebih besar dari 0,05 yang berarti bahwa distribusi data yang didapat adalah normal. Setelah memenuhi batas normal pada uji normalitas, data kepadatan tulang dilanjutkan untuk diuji homogenitas variannya menggunakan *Levene's test*. Hasil uji *Levene's test* adalah sebagaimana yang terdapat pada tabel 5.4 berikut.

**Tabel 5.5** Hasil uji homogenitas varian *Levene's test*

Levene Statistic	Sig.
2.016	0.123

Hasil uji homogenitas pada tabel 5.5 menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,123. Nilai signifikansi yang didapat lebih besar dari 0,05 yang berarti data yang didapat memenuhi syarat uji homogenitas yang kemudian dapat diberlakukan analisis perbedaan dengan ANOVA *One-way*. Hasil uji perbedaan ANOVA didapat adalah sebagaimana yang terdapat pada tabel 5.6.

**Tabel 5.6** Hasil uji ANOVA *one-way*

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1388.774	4	347.194	14.423	.000
Within Groups	601.821	25	24.073		
Total	1990.595	29			

Hasil uji yang menyatakan nilai signifikansi 0,000 dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan signifikan persentase kepadatan tulang trabekular antar kelompok karena nilai signifikansinya lebih kecil dari 0,05. Selanjutnya dilakukan uji beda nyata terkecil menggunakan uji *Least Significant Difference (LSD)* untuk mengetahui secara rinci signifikansi perbedaan dari data kepadatan tulang trabekular yang didapat. Nilai ketebalan tulang trabekular suatu kelompok dinyatakan signifikan dengan kelompok lain bila memiliki nilai signifikansi  $<0,05$ . Hasil uji LSD yang didapat adalah sebagaimana yang terdapat pada tabel 5.7 berikut.

**Tabel 5.7 Hasil Uji LSD**

Kelompok	1	2	3	Negatif	Positif
1		0.484	0.448	0.000*	0.278
2	0.484		0.166	0,000*	0.679
3	0.448	0.166		0.000*	0.087
Negatif	0.000*	0,000*	0.000*		0,000*
Positif	0.278	0.679	0.087	0,000*	

\*Beda signifikan dengan nilai signifikansi <0,05

Tabel 5.7 diatas menunjukkan hasil uji LSD yang secara umum menyatakan adanya perbedaan signifikan antara kelompok dosis 2 mg, 4 mg, 8 mg dan kontrol positif dengan kontrol negatif. Hal ini ditandai dengan munculnya nilai signifikansi yang kurang dari 0,05 antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok lain. Kelompok kontrol negatif memiliki nilai signifikansi 0,000 dengan kelompok dosis 2 mg, 0,000 dengan kelompok dosis 4 mg, 0,000 dengan kelompok dosis 8 mg dan 0,000 dengan kelompok kontrol positif. Hasil ini dapat diartikan bahwa ekstrak etil asetat daun kenitu dalam dosis 2 mg, 4 mg dan 8 mg serta alendronat dosis 0,026 mg memiliki aktivitas dalam meningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebra pada mencit betina yang diinduksi deksametason.

Perbedaan yang tidak signifikan ditunjukkan pada hasil uji LSD antar kelompok perlakuan. Hasil uji LSD antara kelompok dosis 2 mg dengan dosis 4 mg adalah 0,484, antara kelompok dosis 2 mg dan 8 mg adalah 0,448 serta antara kelompok dosis 4 mg dan 8 mg adalah 0,166. Seluruh hasil uji LSD antar kelompok perlakuan memiliki nilai signifikansi lebih besar dari 0,05. Hal ini

menyebabkan tidak ada dosis yang dapat dinyatakan sebagai dosis optimum pada penelitian ini.

Nilai signifikansi yang bermakna dari seluruh kelompok uji dan kontrol positif terhadap kontrol negatif menandakan adanya efek farmakologis yang dimiliki oleh ekstrak etil asetat daun kenitu dalam tiga kelompok dosis yang bahkan melebihi alendronat yang merupakan kontrol positif. Efek farmakologis yang terjadi diduga akibat aktivitas dari kandungan kimia yang dimiliki ekstrak etil asetat daun kenitu yakni flavonoid. Flavonoid diketahui memiliki manfaat sebagai fitoestrogen yang mana secara struktural atau fungsional memiliki kemiripan seperti  $17\beta$ -estradiol (E2). Kemiripan inilah yang kemudian menyebabkan fitoestrogen dapat berikatan dengan *estrogen receptors*, sehingga menghasilkan aktivitas estrogenik yang salah satu bentuknya adalah meningkatkan homeostasis dalam remodelling tulang (Benassayag, 2002; Urasopon *et al.*, 2008).

Mekanisme fitoestrogen dalam meningkatkan homeostasis pada proses remodelling tulang diawali dengan ikatan fitoestrogen dengan reseptor estrogen *alpha* dan *betha* yang terdapat di dalam sitosol sel sehingga menurunkan sekresi sitokin seperti IL-1, IL-6 dan TNF- $\alpha$ . Ketiga sitokin yang disekresi tersebut memiliki aktivitas terhadap penyerapan tulang, sehingga keberadaan fitoestrogen dalam hal ini dapat menurunkan penyerapan tulang. Fitoestrogen juga meningkatkan sekresi *Transforming Growth Factor  $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) yang merupakan mediator dalam menarik osteoblast ke dalam tulang untuk menutup lubang pada tulang akibat penyerapan oleh osteoklas. Selain itu fitoestrogen meningkatkan

proses terjadinya apoptosis pada osteoklas yang merupakan agen penyerap tulang dengan memproduksi TGF- $\beta$  (Kawiyana, 2009; Meeta, 2013).

Hasil penelitian ini sama dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Utamingtyas (2017) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol 70% daun kenitu memiliki aktifitas terhadap peningkatan tulang trabekular vertebra pada mencit betina yang diinduksi deksametason. Senyawa aktif yang dianggap memiliki aktivitas sebagai fitoestrogen pada penelitian tersebut adalah isoflavon. Dosis optimum pada penelitian tersebut adalah 8 mg, sedangkan pada penelitian ini tidak dapat ditentukan dosis optimumnya karena nilai signifikansi yang lebih besar dari 0,05. Hal ini diduga karena perbedaan pelarut yang digunakan menyebabkan isoflavon yang terdapat pada ekstrak kedua penelitian ini berbeda. Pada penelitian ini dosis 8 mg memiliki nilai aktivitas tertinggi namun tidak signifikan berbeda dengan dosis lain, hal ini diduga senyawa fitoestrogen yang didapat dari ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat lebih tinggi sehingga *range* dosis efektifnya menjadi sempit. Dosis optimum yang tidak dapat ditemukan kemungkinan dikarenakan mekanisme aktivitas ekstrak daun kenitu yang hormonal, aktivitas hormonal memiliki ciri khusus yakni *non-motonic dose response*, dimana dosis yang berlaku tidak memiliki aktivitas seperti umumnya obat. Peningkatan dosis pada aktivitas hormonal tidak berarti peningkatan efektifitas dosis begitu pula dengan penurunannya. Dosis efektif pada aktivitas hormonal dapat berupa dosis rendah menurun saat ditingkatkan namun meningkat lagi pada dosis tertentu (Beausoleil, 2013).

## 5.7 Aktivitas kandungan ekstrak etil asetat daun kenitu dalam perspektif islam

Allah menumbuhkan tanaman berbagai jenis dan manfaatnya. Ada banyak ayat Alquran yang menjelaskan tentang manfaat dari tanaman yang Allah ciptakan di bumi. Diantara ayat Alquran yang menjelaskan tentang tanaman adalah surat Al-Anam ayat 99.

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مُمْتَرًا كَبَابًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُنْتَشَبِهِ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

yang artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan kami keluarkan zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah, dan (perhatikan pula) kematangannya. Sesungguhnya, pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.”.

Keberadaan aktivitas peningkatan tulang trabekular vertebra pada mencit betina yang diinduksi deksametason membuktikan kebenaran firman Allah tersebut. Bagian akhir ayat ini menyebutkan "*Unzhurû ilâ tsamarihi idzâ atsmara wa yan'ih*" (amatilah buah- buahan yang dihasilkannya). Perintah ini mendorong perkembangan Ilmu Tumbuh-tumbuhan (Botanik) yang sampai saat ini mengandalkan metode pengamatan bentuk luar seluruh organnya dalam semua fase perkembangannya (Shihab, 2002). Hal ini juga mempertegas adanya efek farmakologis yang dimiliki oleh tanaman utamanya pada penelitian ini yakni daun kenitu. Kata "*Unzhurû*" pada ayat ini merupakan kalimat perintah yang

dapat diinterpretasikan tidak hanya melihat namun meneliti dengan seksama manfaat yang terkandung di dalamnya.

Kalimat *"inna fii dzalikum la aayatil liqoumiy yu'minuun"* menjelaskan lebih tegas bahwa dalam tumbuhan yang Allah ciptakan terdapat suatu tanda yang sangat berarti bagi kaum yang beriman. Pembacaan terhadap ayat kauniyah Allah dengan melakukan penelitian terhadap aktivitas peningkatan tulang trabekular vertebra pada mencit betina oleh ekstrak etil asetat daun kenitu dapat meningkatkan kadar keimanan seorang mukmin serta menjadi dalil atas kebenaran agama Islam.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak etil asetat daun kenitu memiliki aktivitas dalam meningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebra pada mencit betina yang diinduksi deksametason dengan *P-value* 0,000 pada hasil uji ANOVA.
2. Dosis optimum ekstrak etil asetat daun kenitu dalam meningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebra tidak dapat disimpulkan karena hasil uji LSD antar kelompok dosis tidak memiliki nilai signifikansi yang berarti, namun secara rerata persentase hasil histofotometri, kelompok dengan perlakuan dosis 8 mg memiliki persentase kepadatan tulang trabekular tertinggi dibanding kelompok lain.

#### 6.2 Saran

Penelitian dengan *range* dosis yang lebih lebar serta beragam disarankan untuk penelitian selanjutnya sehingga dapat diketahui dosis optimum dari ekstrak etil asetat daun kenitu dalam meningkatkan kepadatan tulang trabekular vertebra pada mencit betina yang diinduksi deksametason. Selain itu perlu juga untuk mengujinya pada penyakit lain yang diakibatkan defisiensi estrogen seperti demensia dan rematik untuk mengetahui aktivitas fitoestrogen dari ekstrak etil asetat daun kenitu.

## DAFTAR PUSTAKA

- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama*. Jakarta: Depkes RI. Hal.10-11
- [USDA] United States Department of Agriculture. *Chrysopyllum cainito* L. Star Apple. <http://www.plants.usda.gov/core/profile?symbol=CHCA10> diakses tanggal 30 November 2016
- Agoes. Goeswin. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung: Penerbit ITB
- Akbar, Budhi. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press
- Al-Imam Abul Fida Isma'il Ibnu Katsir ad-Dimasyqi, Terjemah Tafsir Ibnu Katsir Juz 1, Bandung: Sinar Baru al-Gensindo, 2002
- Anonim. 2010. <http://menguatkan-ingatan.blogspot.co.id/2010/12/hormon-estrogen-bikin-pintar.html> diakses pada tanggal 1 januari 2017
- Anonim, 2010. Management of Osteoporosis in Postmenopausal Women: 2010 Position statement of The North American Menopause Society. *The journal of The North American Menopause Society*; vol.17, no.1, p1-34
- Baziad A. 1999. Kesehatan Fisik Wanita Usia Lanjut. Makalah disajikan pada Seminar tentang Garis Besar Kebijakan Pengelolaan Lansia, Pertemuan Ilmiah Tahunan XI, Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia, Semarang
- Beausoleil C., Jean-Nicolas Ormsby, Andreas Gies, Ulla Hass, Jerrold J. Heindel, Marie Louise H., Pia Juul N., Sharon Munn, Gilbert Schoenfelder. 2013. *Low dose effects and non-monotonic dose responses for endocrine active chemicals: Science to practice workshop: Workshop summary*. Elsevier. Chemosphere 93 (2013) 847–856
- Benassayag C, Perrot-Applanat M, Ferre F. 2002. *Phytoestrogen as Modulators of Steroid Action in Target Cells*. *J. Chromatogr. B* 777: 233-248
- Beral V. 2003. Breast Cancer and Hormon Replacement Therapy in Women Study. *The Lancet*, 362: 413-427 dalam Lestari, Beni, Naisbitt Iman Hanif, Ariska Deffy Anggarany, Thoriq Ziyad, Ziana Walidah, Retno Murwanti. *Potensi Biji Labu Kuning Sebagai Agen Fitoestrogen Pada Wanita Post Menstrual*. Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada

- Brunton LL, Goodman & Gilman's. 2005. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. San Diego: McGraw-Hill
- Compston, Juliet. 2002. *Osteoporosis*. Jakarta: Dian Rakyat
- Cook B, Noteloviz M, Rector C, Krischer J. Osteoporosis patient. education and screening program: results and implications. *Patient Educ Counsel* 1991; 17; 135-45.
- Cosman, Felicia. 2009. *Osteoporosis: Panduan Lengkap agar Tulang Anda Tetap Sehat*. Yogyakarta: B-First
- Darmadi, Nurdiana dan Eviana Norahmawati. 2011. Efek Ekstrak Kacang Tunggak terhadap Osteolas dan Osteoklas pada Tikus dengan Ovarektomi. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang; vol. 26 No.3 (152)
- Dinata, Arda. 2006. Basmi Lalat dengan Jeruk Manis. (Online), (<http://arda.students-undip.ac.id>)
- Duffy C, Perez K, and Partidge A. Impications of Phytoestrogen Intake for Breast Cancer. *A Cancer Journal for Clinicians*. 2007;57 (5):260-277 dalam Darmadi, Nurdiana dan Eviana Norahmawati. 2011. Efek Ekstrak Kacang Tunggak terhadap Osteolas dan Osteoklas pada Tikus dengan Ovarektomi. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang; vol. 26 No.3 (152)
- Duque, Gustavo dan Troen, Bruce R. *Skeletal Aging, dalam Buku Geriatrik Nutrition The Health Professional's Handbook Third Edition*. Jones And Publishers. 2006.
- Fadma yuliani, Fadil Oenzil dan Detty Iryani. 2014. Hubungan Berbagai Faktor Risiko Terhadap Kejadian Penyakit Jantung Koroner Pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal kesehatan Andalas*. FK Unand
- Febianty, Sucie. 2016. *Osteoporosis dan Faktor yang Mempengaruhi pada Pasien dengan Usia di Atas 50 Tahun*. Malang: Universitas Brawijaya
- Fernandez F. 2006. *Deep Tissue Massage Treatment A Handbook of Neuromuscular Therapy*, Mosby Elsevier. Kansas City
- Ferrary, S; Bianchi, M.L; Eisman, J.A.; Foldes, A.J.; Adami, S; dkk. 2012. Osteoporosis in Young Adults: Pathophysiology, Diagnosis and Management. *ProQuest*; 23.12: 2735-48

- Fogel, Tricia A., "The Effects of Hormone Replacement Therapy on the Human Body" (2014). *Honors Projects*. Paper 282. <http://scholarworks.gvsu.edu/honorsprojects/282>
- Gameiro. 2010. Menopause and aging: Changes in the immune system. *Maturitas*. 316-320
- Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. (2002) Production and action of estrogens. *English Journal of Medicine* 346, 340-352.
- Gustafson, J.A. Estrogen Receptor  $\beta$ -a New Dimension in Estrogen Mechanism of Action. *Journal of Endocrinology* 163,379-383 (1999) dalam Kirana, Scientia Inu. 2014. Pengaruh Genistein Terhadap Motorik Embrio Zebrafish Melalui Reseptor Estrogen. *Skripsi*. Prodi Pendidikan Dokter Universitas Brawijaya Malang
- Harbone, J.B. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Cetakan II. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. 1987. Bandung : ITB
- Hardman, J.G., Limbrid L.E., dan Gilman, A.G. 2001. Analgesic-Antipyretic and Antiinflammatory agents and drugs employed in treatment of gout. In : Roberts, L.J. and Morrow, J.D. eds. Goodman and Gillman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10th edition. New York : Mc Graw Hill Companies. p: 687-691, 706
- Herlina, Eka Chandra. 2000. Hubungan Kontrasepsi Hormonal dengan Densitas Mineral Tulang Pada Wanita Menopause dan Pascamenopause. *Tesis*. Program Pendidikan Dokter Spesialis I, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
- Hernawati. Perbaikan Kinerja Reproduksi Akibat Pemberian Isoflavon dari Tanaman Kedelai. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.
- Junaidi, Imam. 2009. *Tafsir Jalalain*. Surabaya: Pustaka eLBA
- Kalfas IH. 2001. The principles of bone healing. *Neurosurg focus* 10:1-10.
- Karsdal, M.A., Martin, T.J., Bollerslev, J., Christiansen, C. and Henriksen, K. (2007) Are nonresorbing osteoclasts sources of bone anabolic activity? *J. Bone Miner. Res.* 22: 487- 494.
- Kawiyana I.K.S. Osteoporosis Patogenesis Diagnosis dan Penanganan Terkini. *J. Peny Dalam*, 2009, 10(2): 166
- Kementrian Kesehatan RI. 2015. *Data dan Kondisi Penyakit Osteoporosis di Indonesia*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI

- Kridawati Atik. 2011. Pemanfaatan Isoflavon untuk Kesehatan. *Jurnal Respati*, Vol. I, No. 1, April 2011: 71 – 80
- Koffi, N., Amoikon, K. E., Tiebre, M. S., Kadja, B., dan Zirihi, G. N. 2009. Effect of Aqueous Extract of *Chrysophyllum cainito* Leaves on The Glycaemia of Diabetic Rabbits. *African Journal Pharmacy Pharmacology*, 3 (10): 501-506
- Kompasiana, 2017. [https://www.kompasiana.com/mhkheri/perawat-sebagai-care-giver-lansia\\_5921c58b21afbd0866386273](https://www.kompasiana.com/mhkheri/perawat-sebagai-care-giver-lansia_5921c58b21afbd0866386273) diakses pada tanggal 14 januari 2018
- Laksana, Toga. 2010. *Pembuatan Simplisia dan Standarisasi Simplisia*. Yogyakarta: UGM
- Lane, Nancy E. 2001. *Osteoporosis Petunjuk untuk Penderita dan Langkah-langkah Penggunaan bagi Keluarga*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada
- Laswati, Hening, Mangestuti Agil dan Retno Widyowati. 2015. Efek Pemberian *Spilanthes Acmella* dan Latihan Fisik Terhadap Jumlah Sel Osteoblas Femur Mencit yang Diinduksi Deksametason. *Media Litbangkes*, vol.25 No.1: 43-50
- Laswati, Hening, Hendi Hendarto, Dian Irawati dan Laba Mahaputra. 2015. Jus Tomat Meningkatkan Kepadatan Tulang Tikus Menopause. *Jurnal Veteriner*. Departemen Ilmu Kedokteran Fisik dan Rehabilitasi, Fakultas Kedokteran Unair (Vol. 16 No. 3 : 457-462)
- Luo XD, Basile, MJ, dan Kennely, EJ, 2002. Polyphenolic Antioxidants from *Chrysophyllum cainito* L. (Star Apple). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (6): 1379-1382
- Mamonto, Siti Iqroma, Max Revolta John Runtuwene dan Frenly Wehantouw. 2014. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Biji Buah Pinang Yaki (*Areca Vestiararia Giseke*) yang Diekstraksi Secara Soklet. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 3 No. 3
- Manolagas S C. 2000. Birth and death of Bone Cells: Basic Regulatory Mechanisms and Implications for the Pathogenesis and Treatment of Osteoporosis. *Endocrine Reviews* 21(2): 115-37
- Meeta, 2013. *Postmenopause Osteoporosis basic and Clinical Consept*s. Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi, p. 2, 20-22

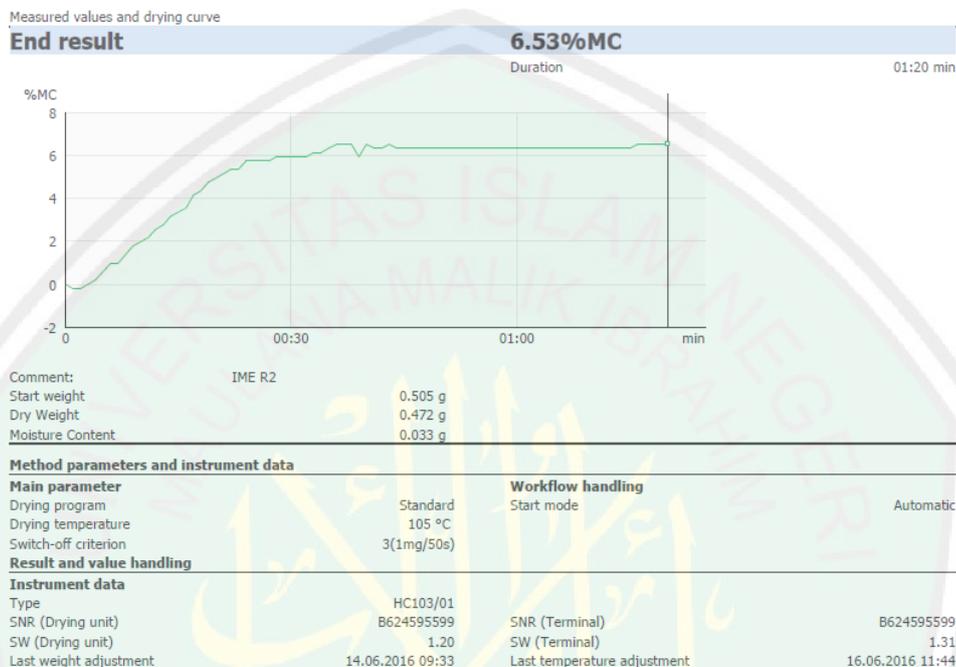
- Luigi Mario, Chiechi and Loredana Micheli. Utility of Dietary Phytoestrogens in Preventing Postmenopausal Osteoporosis. *Current Topics in Nutraceutical Research* Vol. 3, No. 1, pp. 15-28, 2005
- Martin, T.J. and E. Seeman. 2007. New mechanisms and targets in the treatment of bone fragility. *Clin.Sci.* 112:77-91 Morton J, 1987. Star Apple, in Morton J, Fruits of Warm Climates. *Miami Florida.* 408-410
- Mei Jie, Shirley S. C. Yeung, Dan Annie W. C. Kung. 2001. High Dietary Phytoestrogen Intake Is Associated with Higher Bone Mineral Density in Postmenopausal but Not Premenopausal Women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(11):5217-5221
- Muntiha, Mohamad. 2001. Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin. *Balai Penelitian Veterine.* Bogor
- Murray. 2006. Biokimia Harper Edisi 27, Abraham U (penerjemah), 2009. The McGraw-Hill Company Inc, EGC, Jakarta, Indonesia hal 463.465-466 dalam Kirana, Scientia Inu. 2014. Pengaruh Genistein Terhadap Motorik Embrio Zebrafish Melalui Reseptor Estrogen. *Skripsi.* Prodi Pendidikan Dokter Universitas Brawijaya Malang
- Noor, Zairin. 2014. *Buku Ajar: Osteoporosis Patofisiologi dan Peran Atom Mineral dalam Manajemen Terapi.* Jakarta: Salemba Medika
- N'guessan, K. 2008. Plantes medicinales et pratiques medicalestraditionnelles chez les peuples Abbey et Krobou du Departement d'Agboville (Cote-d'Ivoire). These de Doctorat es Sciences Naturalles. *Universite de Cocody-Abidjan; U.F.R. Bioscience; Laboratoire de Botanique. N' d'ordre*, 561: 235. Dalam: Koffi, N., Amoikon, K. E., Tiebre, M. S., Kadja, B., dan Zirihi, G. N. 2009. Effect of Aqueous Extract of *Chrysophyllum cainito* Leaves on The Glycaemia of Diabetic Rabbits. *African Journal Pharmacy Pharmacology*, 3 (10): 501-506
- Perault-Staub AM, Staub JF, Milhaud G. Extracellular Calcium Homeostatis. Dalam Heersche JNM, Kanis JA, eds. Bone and Mineral research/7. Amsterdam: *Elsevier*, 1990. P.1-79
- Permana, Hikmat. 2014. *Patogenesis dan Metabolisme Osteoporosis pada Manusia.* Bandung: FK Universitas Padjajaran
- Riis BJ. 1996. The Role of Bone turnover in The Pathophysiology of Osteoporosis. *Br J Obstet Gynaecol* 103 (Suppl 13):9-15
- Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Edisi keempat. Terjemahan kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press

- Setijono, M.M. 1985. Mencit (*Mus musculus*) Sebagai Hewan Coba. *Tugas Akhir/skripsi* Tidak Diterbitkan. Fak. Kedokteran Hewan IPB
- Shailajan Sunita, Deepti Gurjar. Pharmacognostic and Phytochemical Evaluation of *Chrysophyllum cainito* Linn. Leaves. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 26(1), May – Jun 2014; Article No. 17, Pages: 106-111
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir al Misbah: Pesan Kesan dan Keserasian Al Quran*. Jakarta: Lentera Hati
- Simpson, Evan R., Davis, SR. Minireview: Aromatase and The Regulation of Estrogen Biosynthesis Some New Perspective. *Endocrinology*. 142(11): 4589-4594 (2001) dalam Kirana, Scientia Inu. 2014. Pengaruh Genistein Terhadap Motorik Embrio Zebrafish Melalui Reseptor Estrogen. *Skripsi*. Prodi Pendidikan Dokter Universitas Brawijaya Malang
- Smith R. 1993. Bone Physiology and The Osteoporotic Process. *Resp Med* 87 (Suppl A):3-7
- Sweet, M.G; Sweet, J.M.; Jeremiah, M.P.; Galazka, S.S. 2009. *Diagnosis and Treatment of Osteoporosis*. *Am Fam Physician*; 79 (3): 193-200, 201-202
- Urasopon N, Hamada Y, Cherdshewasart W, Malaivijitnond S. 2008. "Preventive effects of Pueraria mirifica on bone loss in ovariectomized rats," *Maturitas*, vol. 59, no. 2, pp. 137–148.
- Utamingtyas, Nur Imamah. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70 % Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito*) terhadap Peningkatan Kepadatan Tulang Trabekular Vertebrata Mencit Betina yang Diinduksi Deksametason. *Skripsi*. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Yaffe K, Middleton LE, Lui LY, Spira AP, Stone K, Racine C, Ensrud KE, and Kramer JH. Mild Cognitive Impairment, Dementia and Their Subtypes in Oldest Old Women. *Arch Neurol*. 2011.68(5):631-6.
- Zuhro, F. 2015. Uji Aktivitas Inhibitor  $\alpha$ -Glukosidase Ekstrak Etanol 70% Daun Kenitu. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Jember
- Zulaikhah, Siti. 2015. Uji Aktivitas, Polifenol dan Flavonoid Ekstrak Air, Aseton, Etanol beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember. Universitas Jember Fakultas Farmasi

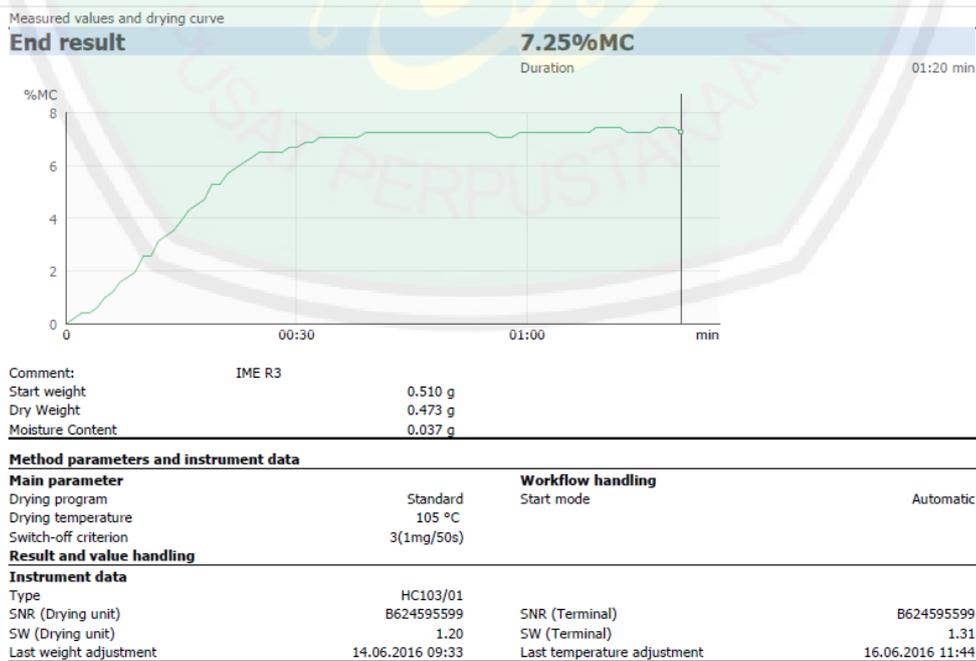
## LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1: Hasil Uji *Moisture Content* Simplisia Kering Daun *C. cainito*

## a. Replikasi 1



## b. Replikasi 2

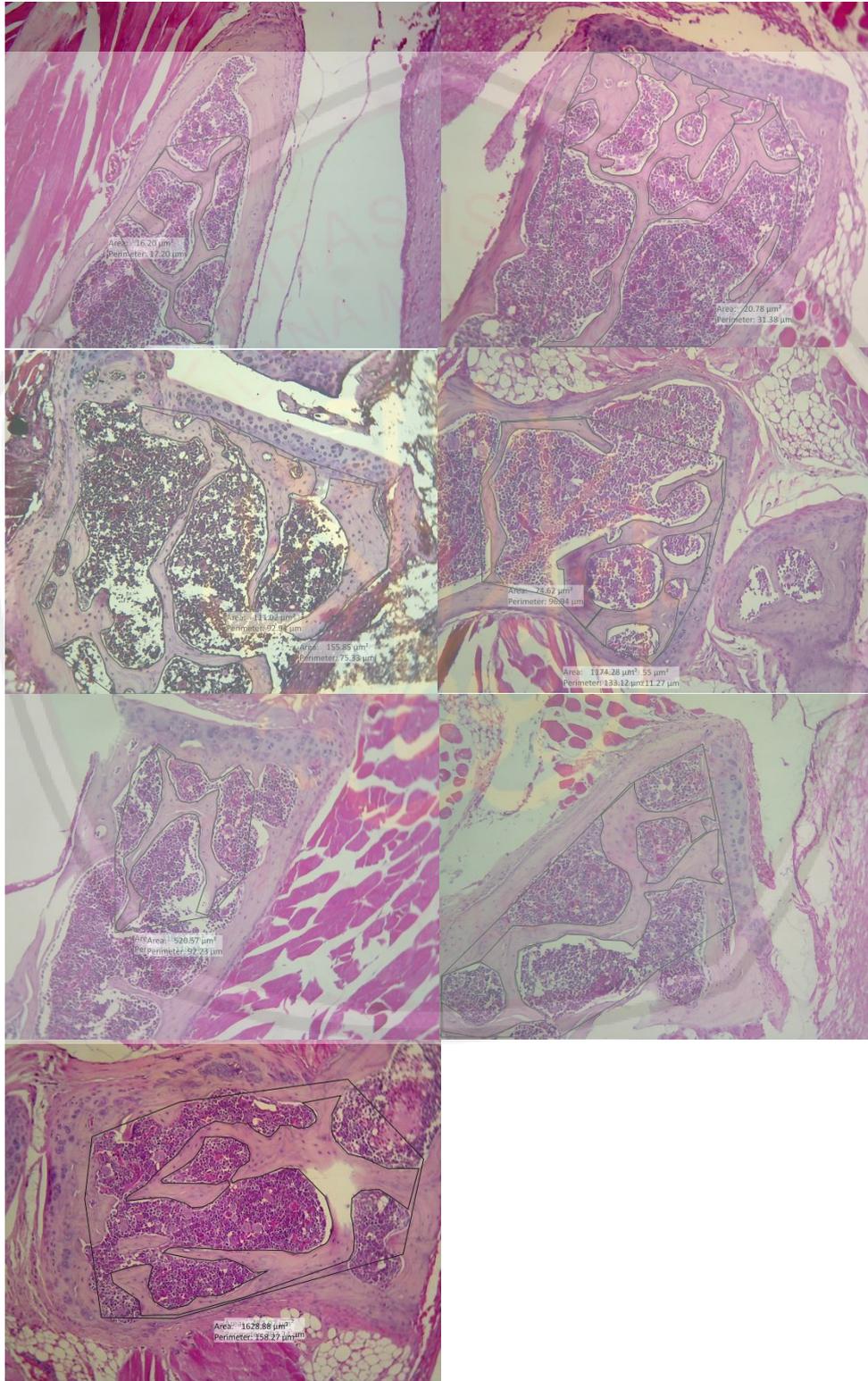


## c. Replikasi 3

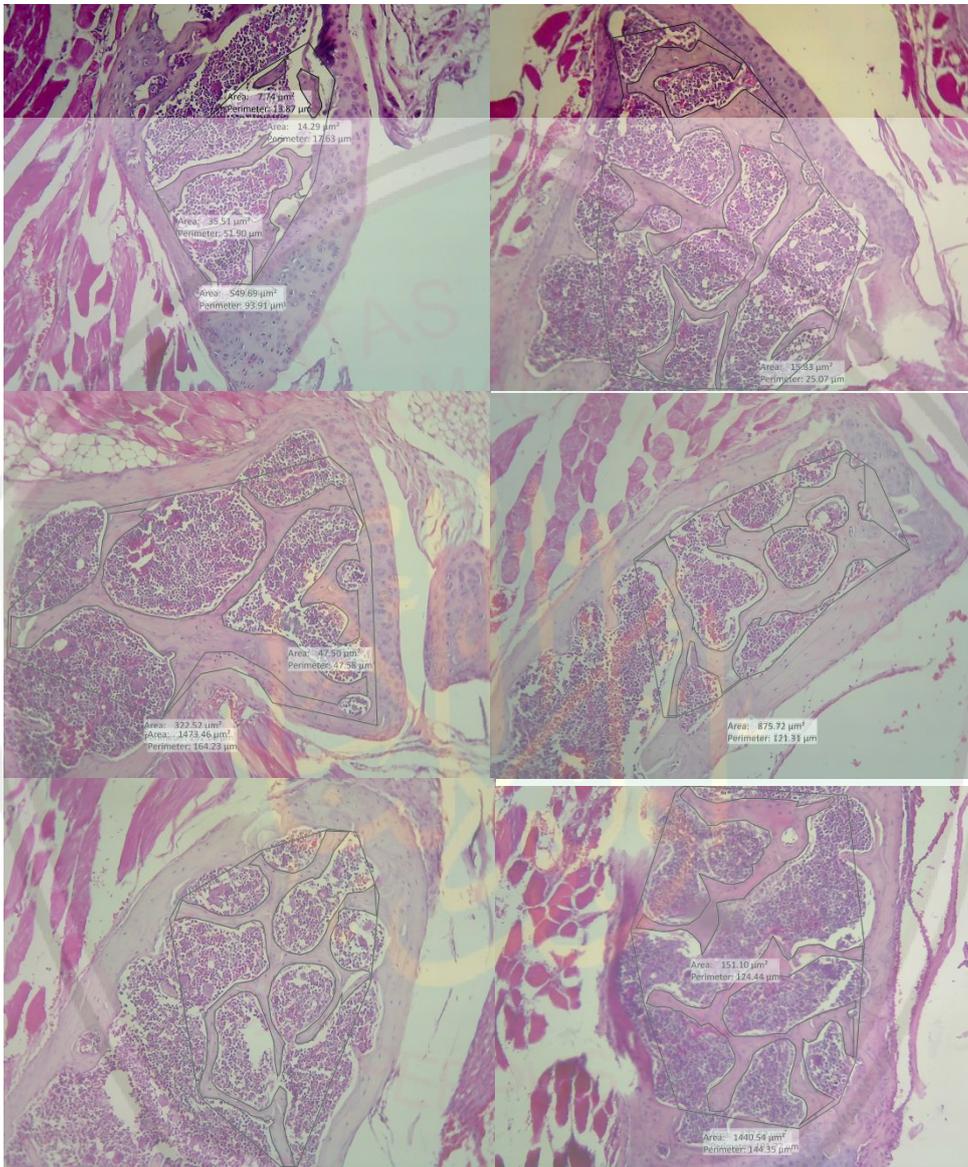
d. Rerata nilai kadar air simplisia kering daun *C. cainito*

Sampel	Replikasi	Kadar Air (%)	Rata-rata (%)
Simplisia kering daun <i>C. Cainito</i>	1	6,75 %	6,84 %
	2	6,53 %	
	3	7,25 %	

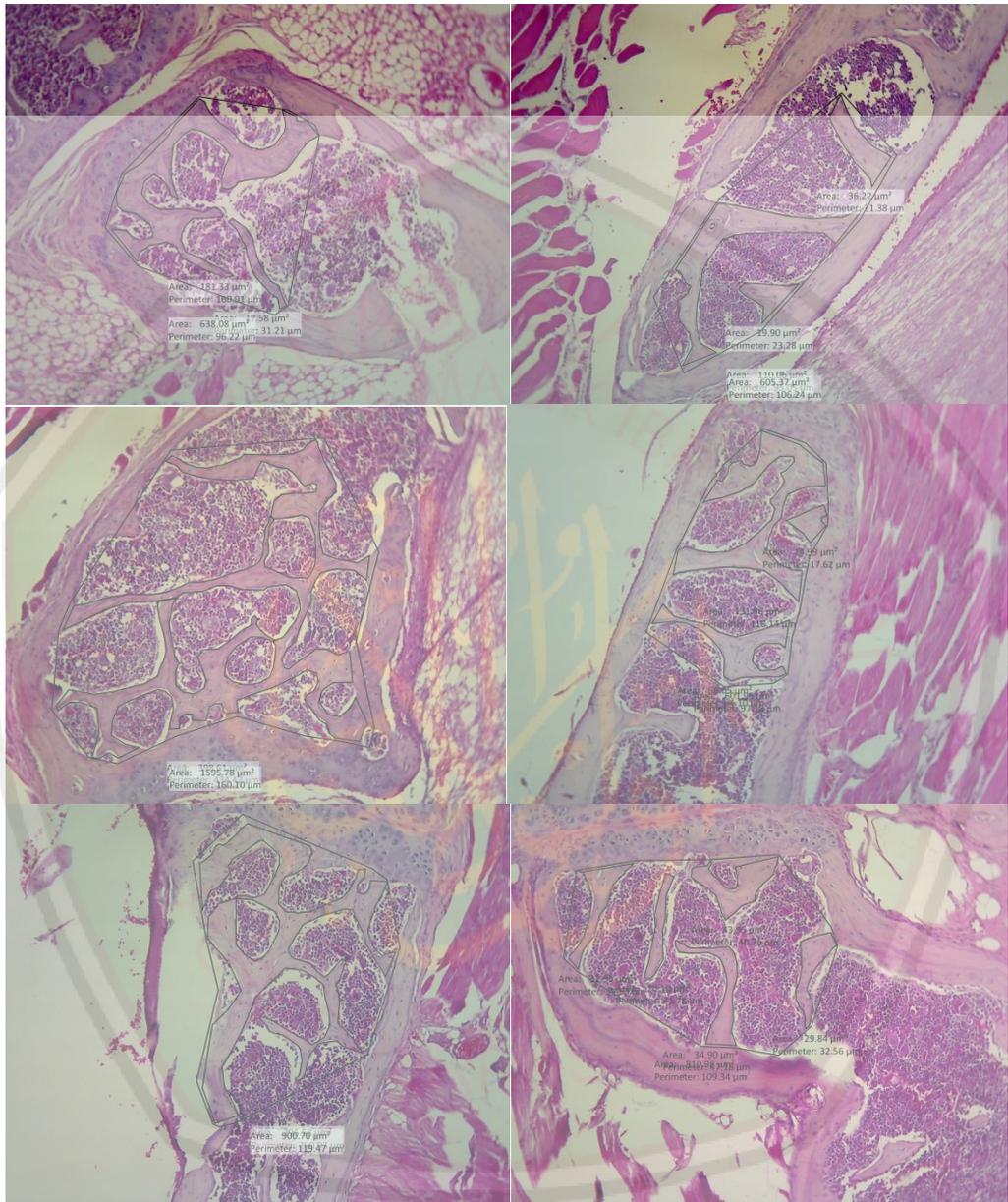
**Lampiran 2: Hasil Pembacaan Histofotometri dengan perbesaran 100x  
Kelompok 2 mg**



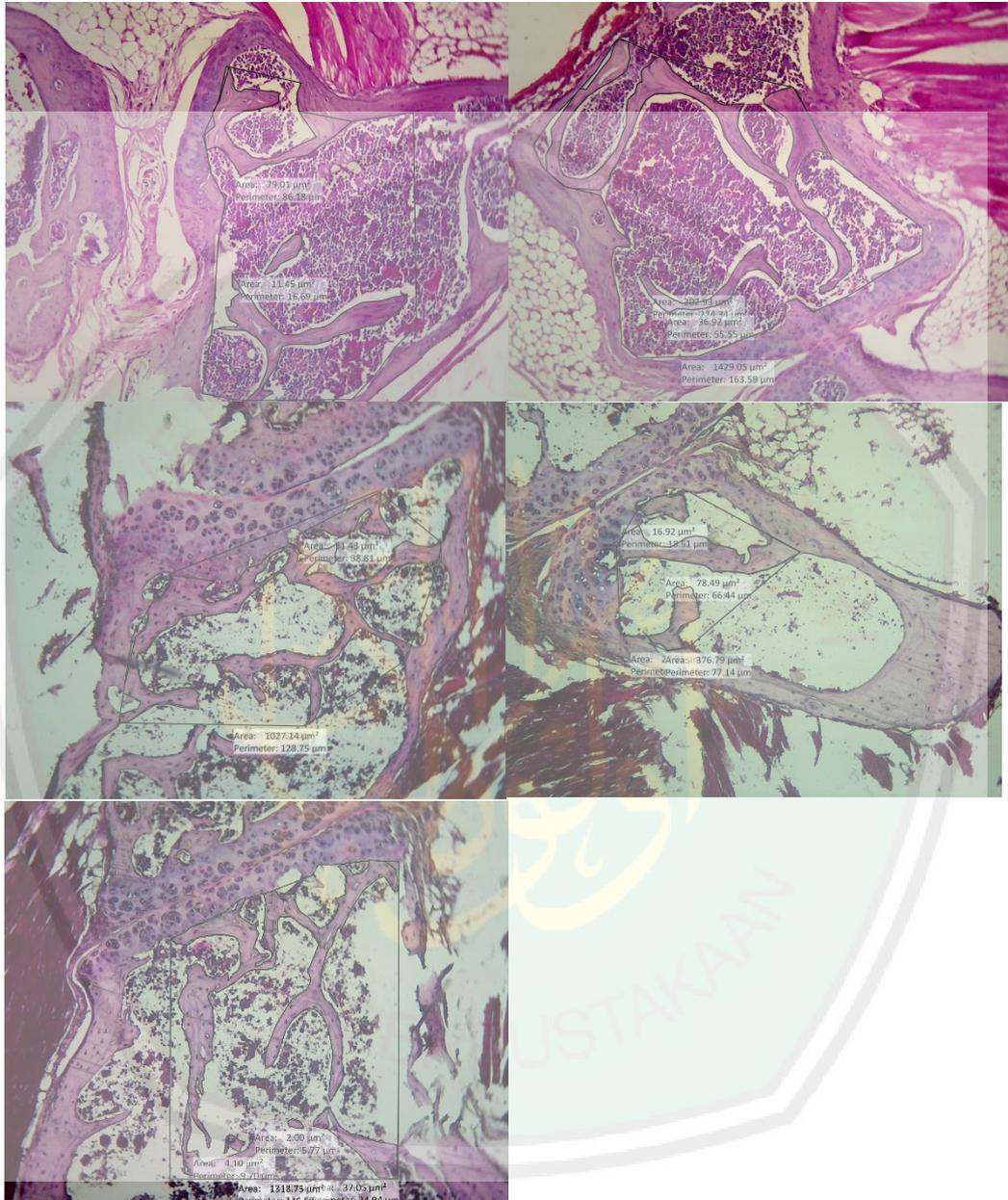
### Kelompok 4 mg



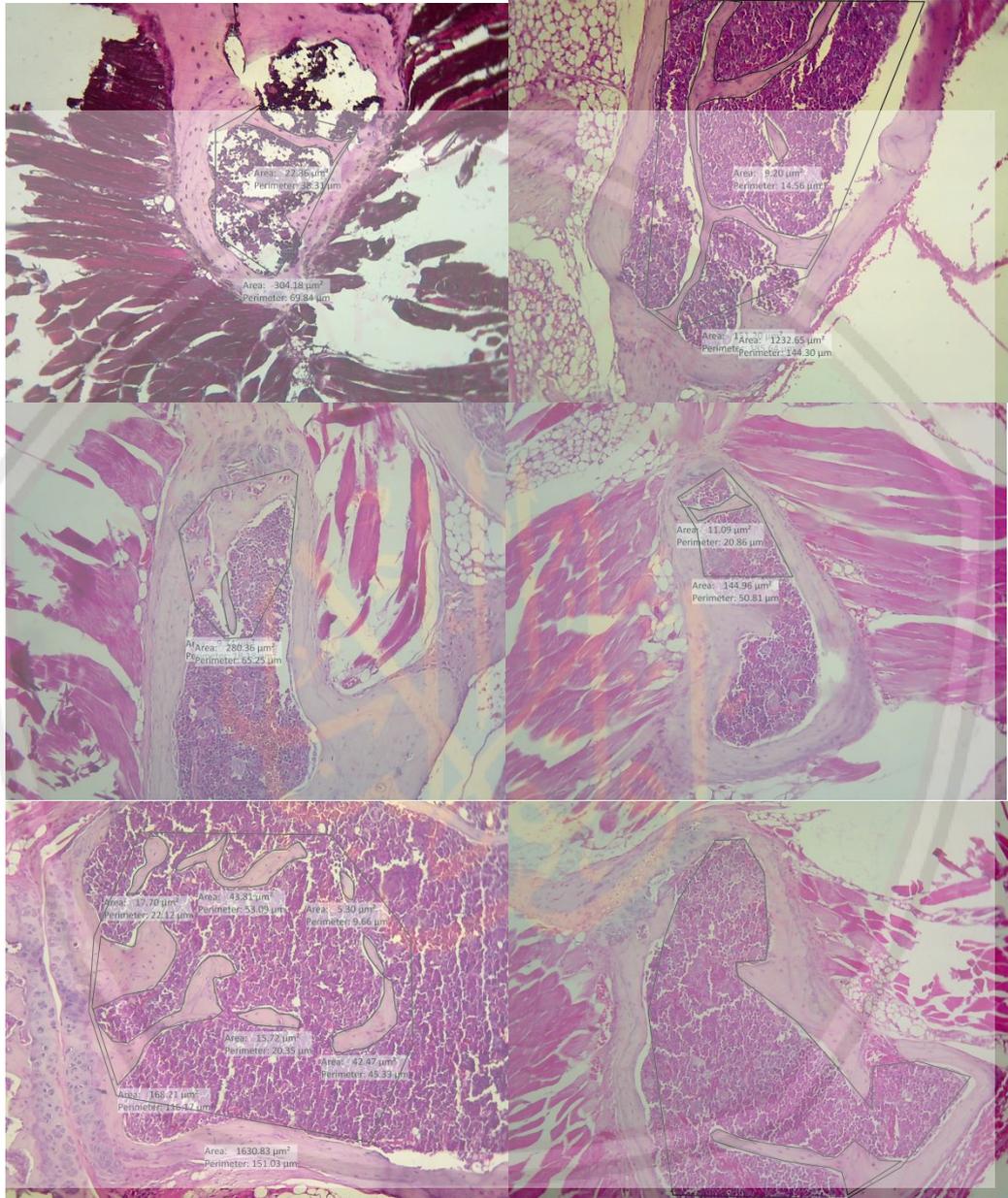
### Kelompok 8 mg



### Kelompok positif



## Kelompok negatif



**Lampiran 3: Data persentase kepadatan tulang trabekular vertebra menceit betina**

Menceit	Luas trabekular	Luas area hitung	Persentase	Rerata persentase
P1	274.0838249	1318.748241	24.05%	23.05%
	2.004865646			
	4.10162735			
	37.04636383			
	317.2366817			
P2	79.00980961	1160.40071	15.26%	
	11.44811884			
	86.65564193			
	177.1135704			
P3	202.9314536	1429.046087	16.78%	
	36.91725554			
	239.8487091			
P4	31.42998314	1027.138137	26.41%	
	239.8824043			
	271.3123875			
P5	16.91940427	376.7929792	32.73%	
	78.48976254			
	27.9086411			
	123.3178079			
1,1	101.6491407	458.9832968	25.67%	26.23%
	16.19526192			
	117.8444026			
1,2	381.5777335	1609.997475	24.99%	
	20.77552875			
	402.3532622			
1,3	311.3128689	1974.00628	29.29%	
	111.0242214			
	155.8511181			
	578.1882084			
1,4	219.5532905	1174.281445	25.05%	
	74.61522273			

	294.1685132			
1,5	118.6129212	520.5672324	22.78%	
1,6	322.8065202	1230.509477	26.23%	
1,7	482.0698368	1628.876367	29.59%	
2,1	58.07745722	549.6891892	21.03%	24.29%
	7.741202837			
	14.29494222			
	35.51234257			
	115.6259448			
2,2	339.2902941	1535.745752	23.12%	
	15.83053172			
	355.1208258			
2,3	322.5198855	1473.463933	25.11%	
	47.49608473			
	370.0159703			
2,4	276.8066444	875.7163259		
			31.61%	
2,5	222.733184	1009.835561	22.05%	
2,6	177.524516	1440.538767	22.81%	
	151.0961039			
	328.6206199			
3,1	181.3302075	638.0781927	31.17%	28.33%
	17.57937537			
	198.9095829			
3,2	110.0598872	605.3733348	27.45%	
	19.89884675			
	36.22475564			
	166.1834896			
3,3	398.6055349	1595.783541	24.97%	
3,4	131.6609559	601.949428	33.67%	
	14.99078068			

	56.05092225			
	202.7026589			
3,5	296.5845575	900.6962299	32.92%	
3,6	31.95781112	810.9827042	19.81%	
	20.09508312			
	43.94737482			
	34.89896357			
	29.83750105			
	160.7367337			
N1	22.35631076	304.182278	7.34%	9.16%
N2	151.2049404	1232.650826	13.01%	
	9.201858521			
	160.4067989			
N3	9.339795945	280.3579914	3.33%	
N4	11.08643458	144.9565143	7.65%	
N5	168.2080746	1630.831676	17.97%	
	15.72473853			
	42.46975374			
	5.296048251			
	43.81264773			
	17.70454754			
	293.2158104			
N6	64.76119359	1143.650685	5.66%	

Keterangan:

P = kelompok kontrol positif

N = kelompok kontrol negative

■ = total luas trabekular

## Lampiran 4: Hasil Analisis Data

### a. Uji normalitas

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Kelompok	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kepadatan	kelompok 1	.214	7	.200 <sup>*</sup>	.912	7	.408
	kelompok 2	.286	6	.135	.805	6	.065
	kelompok 3	.203	6	.200 <sup>*</sup>	.925	6	.540
	kelompok positif	.209	5	.200 <sup>*</sup>	.943	5	.686
	kelompok negatif	.277	6	.165	.917	6	.486

\*. This is a lower bound of the true significance.

### a. Lilliefors Significance Correction

### b. Uji homogenitas

#### Test of Homogeneity of Variances

kepadatan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.016	4	25	.123

### c. Uji ANOVA *One-way* (p= 0,05)

#### ANOVA

kepadatan

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1388.774	4	347.194	14.423	.000
Within Groups	601.821	25	24.073		
Total	1990.595	29			

d. Uji *Least Significant Difference* (LSD)

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: kepadatan

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok 1	kelompok 2	1.94024	2.72967	.484	-3.6816-	7.5621
	kelompok 3	-2.10310-	2.72967	.448	-7.7250-	3.5188
	kelompok positif	3.18257	2.87290	.278	-2.7343-	9.0994
	kelompok negatif	17.06857*	2.72967	.000	11.4467	22.6904
kelompok 2	kelompok 1	-1.94024-	2.72967	.484	-7.5621-	3.6816
	kelompok 3	-4.04333-	2.83272	.166	-9.8774-	1.7908
	kelompok positif	1.24233	2.97098	.679	-4.8765-	7.3612
	kelompok negatif	15.12833*	2.83272	.000	9.2942	20.9624
kelompok 3	kelompok 1	2.10310	2.72967	.448	-3.5188-	7.7250
	kelompok 2	4.04333	2.83272	.166	-1.7908-	9.8774
	kelompok positif	5.28567	2.97098	.087	-.8332-	11.4045
	kelompok negatif	19.17167*	2.83272	.000	13.3376	25.0058
kelompok positif	kelompok 1	-3.18257-	2.87290	.278	-9.0994-	2.7343
	kelompok 2	-1.24233-	2.97098	.679	-7.3612-	4.8765
	kelompok 3	-5.28567-	2.97098	.087	-11.4045-	.8332
	kelompok negatif	13.88600*	2.97098	.000	7.7672	20.0048
kelompok negative	kelompok 1	-17.06857-*	2.72967	.000	-22.6904-	-11.4467-
	kelompok 2	-15.12833-*	2.83272	.000	-20.9624-	-9.2942-
	kelompok 3	-19.17167-*	2.83272	.000	-25.0058-	-13.3376-
	kelompok positif	-13.88600-*	2.97098	.000	-20.0048-	-7.7672-

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Lampiran 5: Dokumentasi Penelitian

### 1. Ekstraksi daun *C. Cainito*



Proses sonikasi



Proses evaporasi



Ekstrak hasil evaporasi



Oven yang digunakan untuk menguapkan sisa pelarut yang masih terkandung dalam ekstrak

### 2. Pembuatan sediaan



Bahan pembuatan larutan  
suspensi deksametason



Bahan pembuatan larutan  
suspensi alendronat



Penimbangan CMC Na



Penimbangan deksametason



Penimbangan alendronat

3. Perlakuan hewan coba



Penimbangan mencit



Aklimatisasi dalam lingkungan laboratorium



Proses dislokasi



Alat dan papan untuk fiksasi

mencit

4. Proses induksi



Proses pembedahan



Tulang trabekular vertebra dalam formalin 10 %



Preparat histologi



Pengamatan preparat



Komputer yang digunakan untuk pemotretan preparat



### Lampiran 5: Perhitungan pembuatan sediaan

#### a. Pembuatan larutan deksametason

- Berat tablet deksametason dosis 0,5 mg = 228,2 mg
- Dosis sekali induksi setiap mencit 0,0029
- Jumlah mencit 36 dilebihkan menjadi 40 untuk menanggulangi larutan yang hilang selama proses induksi
- Total induksi selama seminggu sebanyak 280 kali
- Deksametason dari tablet yang digunakan dalam sekali induksi adalah:  

$$\frac{0,5}{228,2} \times 0,0029 = 1,323\text{mg}$$
- Pembuatan larutan dalam 100 ml untuk 1 minggu memerlukan deksametason sebanyak:  $40 \times 7 \times 1,323 = 370,44$  mg
- Volume larutan untuk sekali induksi adalah:
- $100 \text{ ml} : 280 \text{ mencit} = 0,35 \text{ ml}$

#### b. Pembuatan larutan alendronat

- Berat tablet alendronat dosis 10 mg = 80 mg
- Total induksi dalam seminggu adalah  $7 \times 7 = 49$
- Alendronat dari tablet yang digunakan dalam sekali induksi adalah:  

$$\frac{10}{80} \times 0,026 = 0,208 \text{ mg}$$
- Pembuatan larutan dalam 50 ml untuk 2 minggu memerlukan alendronat dari tablet sebanyak:  $7 \times 7 \times 0,208 = 20,384$  mg
- Volume larutan untuk sekali induksi adalah:  $50 \text{ ml} : 98 \text{ mencit} = 0,51 \text{ ml}$

#### c. Pembuatan larutan ekstrak *C. cainito*

- Ekstrak yang dilarutkan dalam 100 ml air adalah 840 mg
- $100 \text{ ml} : 840 \text{ mg} = 0,119$  yang berarti setiap 0,119 ml larutan terdapat 1 mg ekstrak
- Volume induksi untuk dosis 2 mg = 0,23 ml
- Volume induksi untuk dosis 4 mg = 0,47 ml
- Volume induksi untuk dosis 8 mg = 0,95 ml