

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

*Menopause* merupakan fase dimana pendarahan haid seorang wanita berhenti sama sekali. Fase ini terjadi secara berangsur–angsur sehingga semakin hari semakin jelas penurunan fungsi kelenjar indung telur (ovarium). Perubahan fungsi kelenjar indung telur akan mempengaruhi organ tubuh pada umumnya, masa ini mengakibatkan berbagai macam gangguan kesehatan seperti penyakit jantung koroner, hiperlipidemia dan osteoporosis (Visvanathan *et al*,2005). Hiperlipidemia merupakan peningkatan salah satu atau lebih kolesterol total, LDL, trigliserida atau penurunan HDL dalam darah (Wells *et al*,2009). Kolesterol adalah suatu substansi seperti lilin yang berwarna putih secara alami ditemukan dalam tubuh kita. Kolesterol diproduksi di hati, fungsinya untuk membangun dinding sel dan membuat hormon–hormon tertentu (Depkes, 2012).

Estrogen merupakan salah satu hormon yang mengatur perkembangan seksual dan mempengaruhi karakteristik pertumbuhan pada manusia. Salah satu peran estrogen ialah dalam mempengaruhi perkembangan ciri-ciri kelamin sekunder pada wanita. Selain itu, estrogen juga berperan dalam modulasi kepadatan tulang, transport kolesterol serta produksi dan pelepasan gonadotropin dari kelenjar pituitary (Weitzmann *and* Pacifici, 2006). Oleh karena itu, kekurangan estrogen dalam jumlah besar akan berpengaruh terhadap penurunan kualitas hidup wanita.

Ketersediaan estrogen dalam tubuh akan mengalami penurunan yang drastis pada masa menopause. Defisiensi estrogen dapat mempengaruhi kesehatan payudara dan memicu terjadinya gangguan kesehatan alat reproduksi. Kekurangan estrogen pada wanita menopause dapat menyebabkan *hot flashes*, sulit tidur, berkeringat malam, gangguan fungsi seksual, kekeringan vagina, penyakit kardiovaskular, hiperlipidemia dan pengeroposan tulang (Mendelshon *and* Karas, 2010). Ketidaknyamanan akibat defisiensi estrogen biasa diatasi dengan pemberian estrogen eksogen yang dikenal sebagai *hormon replacement therapy* (HRT) dan telah dikenal sejak tahun 1960-an. Selain mahal terapi ini juga dapat menyebabkan kanker payudara dan endometrium (McClunget *al.*, 2005). Oleh karena itu, diperlukan suatu alternatif lain yang relatif aman dan murah untuk menggantikan HRT, salah satunya adalah dengan menggunakan fitoestrogen.

Fitoestrogen adalah senyawa yang terdapat dalam tumbuhan yang secara struktural dan fungsional memiliki kemiripan dengan estradiol (Duffy *et al.*, 2010). Fitoestrogen dapat berikatan dengan reseptor estrogen dan dapat berinteraksi secara agonis maupun antagonis tergantung pada dosis yang diberikan (Wood *et al.*, 2006). Senyawa-senyawa yang merupakan fitoestrogen antara lain isoflavon, coumestan, lignan, dan stilben (Arroo *et al.*, 2008).

Penelitian mengenai tumbuhan yang memiliki aktivitas estrogenik telah banyak dilakukan, diantaranya yaitu daun kenikir, kedelai, kayu secang, biji labu kuning dan kunyit. Penelitian terhadap tanaman yang satu famili dengan kencur, yaitu kunyit (*Curcuma longa*) mengatakan bahwa kunyit terbukti memiliki aktifitas sebagai estrogenik (Ismadi, 1993). Beberapa penelitian tersebut

menggunakan model hewan uji tikus terovariektomi. Kadar estrogen dalam serum darah tikus mengalami penurunan data awal sebesar  $196,9 \pm 61,65$  pg/ML turun menjadi  $94,57 \pm 10,5$  pg/mL. Adanya penurunan kadar estrogen menjadikan metode ovariektomi pada hewan uji sering digunakan pada penelitian yang berhubungan dengan masa menopause (Seifi *et al*, 2005).

Penelitian mengenai efek estrogenik rimpang kencur sudah dilakukan melalui uji *in silico* untuk mengetahui afinitas kandungan senyawa dari kencur (etil p-metoksisinamat, p-metoksitiren, keren, borneol, parrafin) dengan reseptor baik pada reseptor estrogen  $\beta$ . Hasilnya diketahui bahwa etil p-metoksisinamat memiliki afinitas yang baik pada reseptor estrogen  $\beta$  (Setyaningsih, 2016). Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol rimpang kencur terbukti mengandung metabolit sekunder yaitu golongan senyawa flavonoid, polifenol, tanin, monoterpen/seskuiterpen, steroid dan minyak atsiri. Kandungan utama rimpang kencur yang telah diketahui dan ditemukan dalam rendemen yang relatif besar adalah etil p-metoksisinamat (Hasannah, *et al*, 2011). Etil p-metoksisinamat dapat diperoleh dengan mudah melalui ekstraksi perkolasi serbuk akar tinggal kencur menggunakan petroleum eter atau etanol. Karena etil p-metoksisinamat dapat diisolasi dalam jumlah yang relatif besar sekitar 8–10% maka senyawa produk bahan alami ini berpotensi untuk dijadikan bahan baku sintesis organik (Grant, 2007).

Kekurangan estrogen akan meningkatkan kadar kolesterol dan menaikkan kadar LDL. Estrogen berperan sebagai antioksidan. Peranan estrogen sebagai antioksidan adalah mencegah proses oksidasi kolesterol, sebagai

vasodilator pembuluh darah jantung sehingga aliran darah menjadi lancar dan jantung memperoleh suplai oksigen secara cukup. Dengan berkurangnya estrogen terutama estradiol pada saat menopause maka akan terjadi penurunan fungsi tubuh dan gangguan penurunan metabolisme (Ali,2002).

Penelitian ilmiah mengenai efek estrogenik dari rimpang kencur belum pernah dilakukan. Namun, terdapat. Berdasarkan penelitian tersebut, maka kemungkinan kencur juga memiliki efek yang sama seperti kunyit, yaitu efek estrogenik, sehingga pada penelitian ini diharapkan efek estrogenik rimpang kencur berpengaruh terhadap kadar kolesterol total dan trigliserida pada tikus betina galur *Wistar* terovariektomi.

### **B. Perumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perumusan masalahnya adalah sebagai berikut :

1. Apakah pemberian ekstrak etanol rimpang kencur mampu menurunkan kadar kolesterol total tikus betina galur *Wistar* terovariektomi ?
2. Apakah pemberian ekstrak etanol rimpang kencur mampu menurunkan kadar trigliserida tikus betina galur *Wistar* terovariektomi ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan diadakannya penelitian ini adalah :

1. Mengkaji kemampuan ekstrak etanol rimpang kencur dalam menurunkan kadar kolesterol total pada tikus betina galur *Wistar* terovariektomi.

2. Mengkaji kemampuan ekstrak etanol rimpang kencur dalam menurunkan kadar kolesterol total pada tikus betina galur *Wistar* terovariektomi.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat yaitu :

1. Membuktikan mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol rimpang kencur dalam menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida pada tikus betina galur *Wistar* terovariektomi.
2. Memberi informasi bagi masyarakat mengenai penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida dengan menggunakan ekstrak etanol rimpang kencur.

#### **E. Tinjauan Pustaka**

##### **1. Menopause**

Menopause berasal dari bahasa Yunani yaitu men “*month*” dan pausis “*cessation*”. Masa peralihan antara siklus ovarium yang normal menuju kemunduran fungsi ovarium disebut sebagai masa perimenopause. Produksi estrogen berkurang dan haid tidak terjadi lagi. Menopause menurut WHO adalah berhentinya siklus menstruasi untuk selamanya bagi wanita yang sebelumnya menstruasi sebagai akibat dari hilangnya aktivitas folikel ovarium. Menopause diartikan sebagai tidak dijumpainya emnstruasi selama 12 bulan berturut-turut dimana ovarium secara progresif telah gagal dalam memproduksi estrogen (Kregel and Zhang, 2007). Setelah memasuki usia menopause selalu ditemukan kadar FSH yang tinggi (>35 mIU/ml). Pada awal menopause

kadang-kadang kadar estrogen rendah. Bila seorang wanita tidak selama 12 bulan dan dijumpai kadar FSH  $>35$  Miu/ml dan kadar estradiol  $< 30$  pg/ml, maka wanitatersebut dapat dikatakan telah mengalami menopause (Rahman *et al*, 2010).

Wanita menopause hilangnya fungsi ovarium secara bertahap akan menurunkan kemampuannya dalam menjawab rangsangan hormon-hormon hipofisis untuk menghasilkan hormon steroid. Saat dilahirkan wanita memiliki kurang lebih 750.000 folikel primordial. Seiring meningkatnya usia jumlah folikel tersebut akan semakin berkurang. Usia 40-44 tahun rata-rata jumlah folikel primordial menurun sampai 8300 buah yang disebabkan oleh adanya proses ovulasi pada setiap siklus juga karena adanya apoptosis yaitu proses folikel primordial yang mati dan terhenti pertumbuhannya. Proses tersebut terjadi terus menerus selama kehidupan seorang wanita hingga usia 50 tahun fungsi ovarium menjadi sangat menurun. Perubahan-perubahan dalam sistem vaskularisasi ovarium sebagai akibat proses penuaan dan terjadinya sklerosis pada sistem pembuluh darah ovarium diperkirakan sebagai penyebab gangguan vaskularisasi ovarium. Terjadinya proses penuaan dan penurunan fungsi ovarium menyebabkan ovarium tidak mampu menjawab rangsangan hipofisis untuk menghasilkan hormon steroid (Heinemann *et al*, 2004).

## **2. Hiperlipidemia**

Istilah hiperlipidemia menyatakan adanya peningkatan salah satu atau lebih kolesterol total, *Low Density Lipoprotein* (LDL), trigliserida atau penurunan *High Density Lipoprotein* (HDL) dalam darah (Wells *et al.*, 2009).

Hiperlipidemia merupakan penyebab utama aterosklerosis dan penyakit yang berkaitan dengan aterosklerosis, seperti penyakit jantung koroner, serebrovaskuler iskemia dan pembuluh perifer (Mahlay dan Bersot., 2003).

Terapi obat-obatan konvensional sudah diteliti secara luas untuk mengatasi keadaan hiperlipidemia. Menurut *National Heart Lung and Blood Institute* (NHLBI) tahun 2001, ada beberapa golongan obat yang digunakan untuk mengatasi hiperlipidemia antara lain *bile acid sequestrants* (kolesteramin, kolestipol, kolesevelam), fibrat (klofibrat, fenofibrat, gemfibrosil), niasin/*nicotinic acid* (vitamin B3), statin (atrovastatin, fluvastatin, lovastatin, pravastatin, rosuvastatin, cerivastatin, simvastatin), produk kombinasi (lovastatin+niasin, simvastatin + ezetemibe) dan lainnya (ezetemibe). Berbagai studi mendukung adanya bukti ilmiah mengenai obat-obatan tersebut secara efektif menurunkan kadar kolesterol serum, tetapi juga menyebabkan berbagai efek samping (NHLBI,2001).

Obat hiperlipidemia akan menimbulkan ketergantungan bagi penggunaannya dan bila digunakan secara berkelanjutan obat ini akan mengakibatkan gangguan fungsi organ lain seperti fungsi ginjal, hati dan paru-paru (Hicow, 2011). Menurut *American Medical Association* (AMA), mengobati kolesterol dengan obat hipolipidemia yang digunakan saat ini bisa menyebabkan sakit kepala, gagal jantung, kerusakan ginjal, dan gangguan pencernaan (Braverman, 2007). Adanya bahaya yang dapat ditimbulkan oleh obat hipolipidemia maka diperlukan usaha untuk mencari alternatif lain yang lebih aman, misalnya penggunaan tanaman yang memiliki potensi

hipolipidemia. Faktor munculnya penyakit jantung koroner disebabkan oleh kadar kolesterol total dan trigliserida dalam darah yang tinggi (Iso *et al.*, 2001).

### 3. Kolesterol

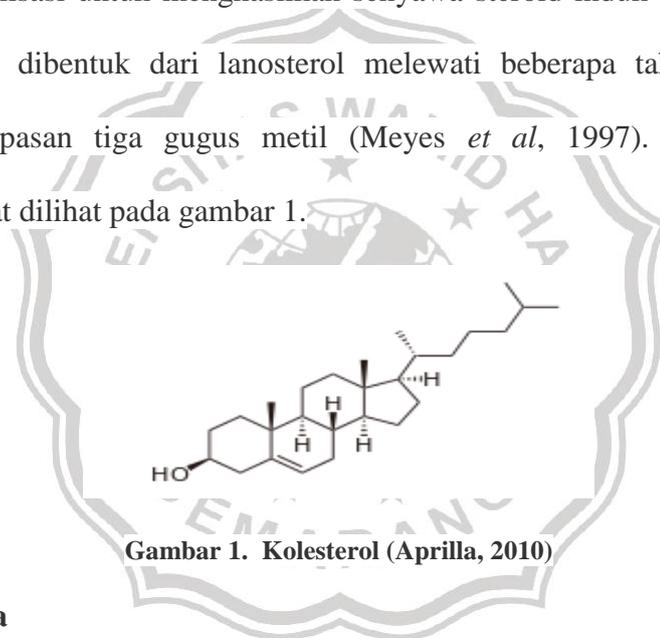
Kolesterol merupakan unsur penting dalam membran plasma dan lipoprotein yang sering ditemukan dalam bentuk kombinasi dengan asam lemak seperti ester kolesterol, dimana gugus hidroksil pada posisi 3 teresterifikasi dengan asam lemak rantai panjang (Murray *et al.*, 2009). Ada tingkatan kolesterol dalam seum yaitu kolesterol serum normal dengan kolesterol total <200 mg/dL, kolesterol serum tinggi yang dapat menyebabkan kondisi hiperkolesterolemia sedang (240-289 mg/dL) dan kolesterol serum sangat tinggi yang dapat menyebabkan hiperkolesterolemia berat (>290 mg/dL) (Grundy, 2004).

Kolesterol merupakan unsur penting dalam membran plasma, karena kolesterol merupakan senyawa induk bagi semua steroid lainnya yang disintesis dalam tubuh seperti hormon korteks adrenal serta hormon seks, vitamin D dan asam empedu (Murray *et al.*, 2009). Proses yang meningkatkan kadar kolesterol adalah pengambilan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh reseptor LDL, pengambilan lipoprotein yang mengandung kolesterol oleh lintasan yang tidak diperantarai reseptor, pengambilan kolesterol bebas dari lipoprotein yang kaya akan kolesterol itu oleh membran sel, sintesis kolesterol, dan hidrolisis ester kolesterol oleh enzim ester kolesterol hidrolase (Mayes *et al.*, 1997).

Kolesterol merupakan zat yang berguna untuk menjakankan fungsi tubuh. Kolesterol berasal dari lemak yang menghasilkan 9 kalori. Sementara itu karbohidrat dari tepung dan gula hanya menghasilkan 4 kalori. Selain berguna

untuk proses metabolisme, kolesterol berguna untuk membungkus jaringan saraf, meliputi sel dan berbagai pelarut vitamin. Pada usia anak kolesterol dibutuhkan untuk mengembangkan jaringan otak (Wirjowidagdo dan Sitanggang, 2003).

Biosintesis kolesterol dibagi menjadi lima tahap yaitu : asam mevalonat yang merupakan senyawa enam karbon disintesis dari asetil KoA, isoprenoid dibentuk dari mevalonat melalui pelepasan CO<sub>2</sub>, enam unit isoprenoid mengadakan kondensasi untuk membentuk senyawa-senyawa skualena, skualena mengalami siklisasi untuk menghasilkan senyawa steroid induk yaitu lanosterol, dan kolesterol dibentuk dari lanosterol melewati beberapa tahap selanjutnya termasuk pelepasan tiga gugus metil (Meyes *et al.*, 1997). Struktur kimia kolesterol dapat dilihat pada gambar 1.



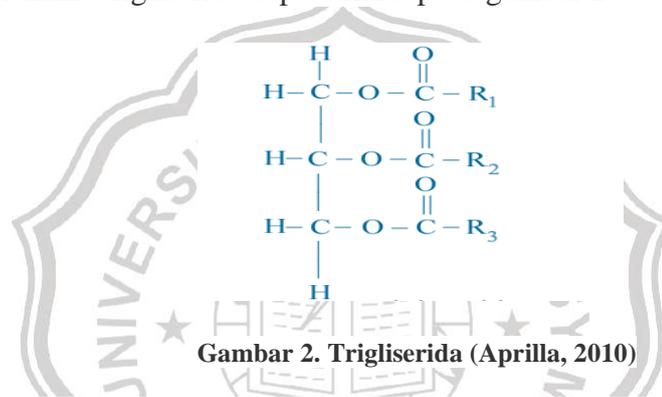
Gambar 1. Kolesterol (Aprilla, 2010)

#### 4. Triglicerida

Triglicerida adalah ester alkohol gliserol dan asam lemak (Murray, 2003). Triglicerida dalam tubuh digunakan untuk menyediakan energi berbagai proses metabolisme. Fungsi lipid ini mempunyai peranan yang hampir sama dengan karbohidrat yaitu memberi energi untuk tubuh (Guyton dan Hall, 1997). Lipid yang sudah tercerna terutama dalam bentuk larut dalam air, membentuk asam lemak monogliserida dan asam empedu kemudian diserap ke dalam sel mukosa intestinum. Triglicerida

terdiri dari tiga molekul asam lemak teresterifikasi menjadi gliserol yang merupakan lemak netral, disintesis dari karbohidrat untuk disimpan dalam sel lemak (Dorland, 2002).

Trigliserida merupakan gliserol yang berikatan dengan tiga asam lemak. Ketiga asam lemak yang berikatan dengan gliserol dapat sama maupun berbeda. Rumus kimia trigliserida adalah  $\text{RCOO-CH}_2\text{CH}(\text{OOCR}')\text{-OOCR}$ , dimana R, R', R'' adalah rantai alkil (Nugroho, 2008). Struktur kimia trigliserida dapat dilihat pada gambar 2.



Manfaat trigliserida dalam tubuh terutama menyediakan energi untuk berbagai proses metabolik, dimana fungsinya hampir sama dengan karbohidrat. Fungsi utama trigliserida adalah sebagai zat energi. Lemak disimpan di dalam tubuh dalam bentuk trigliserida. Apabila sel membentuk energi, maka enzim lipase dalam sel lemak akan memecah trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak serta melepaskannya ke dalam pembuluh darah, kemudian dibakar sehingga menghasilkan energi, karbondioksida ( $\text{CO}_2$ ) dan air ( $\text{H}_2\text{O}$ ) (Guyton dan Hall, 1997).

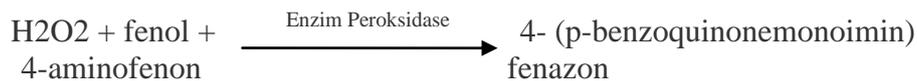
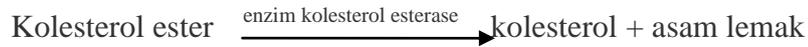
Lemak yang terdapat dalam makanan akan diuraikan menjadikan kolesterol, trigliserida, fosfolipid dan asam lemak bebas. Asam lemak

diaktifkan menjadi asil KoA oleh enzim KoA sintetase melalui ATP dan KoA. Dua molekul asil KoA bergabung dengan gliserol 3 fosfat untuk membentuk senyawa fosfidat (*1,2-diasilgliserolfosfat*). Pengaturan biosintesis trigliserida dapat terjadi dengan tersedianya asam lemak bebas. Asam lemak bebas yang lolos dari oksidasi akan diubah menjadi fosfolipid sehingga asam lemak yang berlebihan akan membentuk trigliserida (Murray *et al*, 2003).

## 5. Metode Penetapan Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida

Sampel darah yang telah didapatkan melalui sinus orbitalis selanjutnya disentrifugasi untuk mendapatkan serumnya. Serum digunakan dengan pertimbangan lebih mudah untuk mendapatkannya dan tidak membutuhkan koagulan. Kadar kolesterol serum ditetapkan dengan metode enzimatik kolesterol oksidase melalui penambahan reagen kit kolesterol, CHOD-PAP. Metode ini dipilih karena kolesterol dapat bereaksi dengan reagen CHOD-PAP sehingga terbentuk quinoneimine yang merupakan berwarna merah dapat ditetapkan intensitas warnanya dengan menggunakan spektrofotometer visibel dengan panjang gelombang serapan maksimal 500nm. Intensitas warna yang terbentuk akan berbandingkan lurus dengan kadar kolesterol darah pada sampel uji. Metode enzimatik kolesterol oksidase ini merupakan salah satu metode yang dapat dilakukan dengan cepat, tidak membutuhkan banyak tindakan sehingga mempunyai presisi yang cukup baik (Speicher dan Smith, 1997) . Prinsip penetapan kadar kolesesterol total dapat dilihat pada skema 1.

Prinsip :



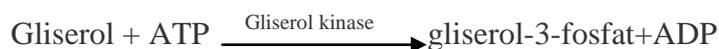
(Anonim, 2007).

### Skema 1. Prinsip penetapan kadar kolesterol total

Penetapan kadar trigliserida menggunakan metode GPO-PAP dengan alat spektrofotometer UV-Visibel. Mekanisme reaksi yang terjadi pada penetapan kadar trigliserida yaitu trigliserida dengan adanya enzim lipoprotein lipase akan dihidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak. Gliserol dengan adanya adenosin trifosfat (ATP) oleh enzim gliserol kinase dirubah menjadi gliserol-3-phospat. Selanjutnya gliserol-3-phospat dioksidasi oleh enzim gliserol phospat oksidase menjadi dihidroksiaseton phospat dan hidrogen peroksida. Hedrogen peroksida yang terbentuk bereaksi dengan 4-aminoantipirin dan 4-klorofenol yang dikatalisis oleh peroksidasi membentuk senyawa kuinonimin yang berwarna kuning kecoklatan (Hardjoeno,2003).

Prinsip penetapan kadar trigliserida seperti pada skema 2.

Prinsip :



## 6. Rimpang Kencur

### a. Klasifikasi

Klasifikasi rimpang kencur (*Kaempferia galangal* L.) sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
 Divisi : Spermatophyta  
 Sub-divisi : Angiospermae  
 Kelas : Monocotyledonae  
 Ordo : Zingiberales  
 Famili : Zingiberaceae  
 Sub-famili : Zingiberoideae  
 Genus : *Kaempferia*  
 Spesies : *Kaempferia galangal* L. (Backer, 1986).

### b. Nama Daerah

Kencur adalah istilah Jawa, sedangkan nama daerah lain Ceuko nama daerah Aceh, Keciwer nama daerah Batak, Cakue nama daerah Padang, Cikur nama daerah Sunda, Cekuh nama daerah Bali, (Asauli, Sauleh, Soul, Umpa) nama daerah Maluku, Kencor nama daerah Madura, Kencur nama bahasa Melayu, Sukung nama daerah Manado, Cekir nama daerah Sumba (Backer, 1986).

### c. Morfologi

Kencur (*Kaempferia galanga* L.) adalah salah satu jenis tanaman umbi-umbian yang banyak terdapat di Indonesia. Bagian dari tanaman

ini yang banyak dimanfaatkan adalah rimpangnya. Rimpang kencur bercabang banyak, pada akarnya terdapat umbi yang berbentuk bulat. Daging rimpang kencur lunak, tidak berserat, berwarna putih, kulit luarnya berwarna coklat dan mempunyai bau yang spesifik.

#### d. Khasiat Rimpang Kencur

Rimpang kencur banyak dimanfaatkan sebagai tonikum, sebagai obat bengkak, obat reumatik, obat batuk, ekspektoran (memperlancar keluarnya dahak), disentri, menghangatkan badan, stimulant (penambah tenaga), merangsang nafsu makan, dan bersifat karminatif sehingga dapat mencegah kembung di perut (Grant, 2007). Secara empirik kencur digunakan sebagai penambah nafsu makan, ekspektoran, obat batuk, disentri, infeksi bakteri, masuk angin, dan sakit perut. Kandungan etil p-metoksisinamat sebagai fitoestrogen yang diduga mampu menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida (Assaat, 2011). Gambar rimpang kencur dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Rimpang kencur (*Kaempferia galanga*L.) (Assaat, 2011).

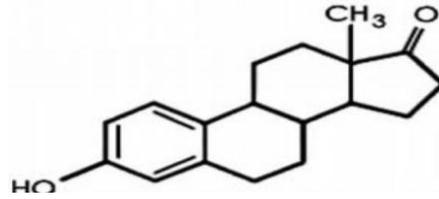
#### e. Kandungan Kimia

Kandungan kimia dari rimpang kencur diantaranya terdiri atas *miscellaneous compounds* (misalnya etil p-metoksisinamat 58,47%, isobutil  $\beta$ -2-furilakrilat 30,90%, dan heksil format 4,78%); derivat monoterpen teroksigenasi (misalnya borneol 0,03% dan kamfer hidrat 0,83%), serta monoterpen hidrokarbon (misalnya kamfen 0,04% dan terpinolen 0,02%) (Sukari *et al.*, 2008).

### 7. Peran Estrogen terhadap Kadar Kolesterol

Wanita menjelang *masapause*, produksi estrogen menurun sehingga menimbulkan berbagai gangguan. Estrogen tidak saja berfungsi dalam sistem reproduksi, tetapi juga berfungsi untuk tulang, jantung, dan mungkin juga otak. Dalam melakukan kerjanya, estrogen membutuhkan reseptor estrogen (ERs) yang dapat “on/off” di bawah kendali gen pada kromosom yang disebut -ER. Beberapa target organ seperti pertumbuhan dada, tulang dan empedu responsif terhadap -ER tersebut.

Estrogen merupakan hormon kelamin utama pada wanita. Hormon ini berperan dalam differensiasi sel, jaringan reproduksi, perlindungan terhadap osteoporosis, dan sebagai hormon *cardioprotective* yang beraksi dengan meningkatkan kadar HDL dan menurunkan LDL. Aksi biologis hormon estrogen diperantarai oleh reseptor estrogen, yang termasuk dalam golongan reseptor inti (Matthews and Gustafsson, 2003). Struktur kimia estrogen dapat dilihat pada gambar 4.



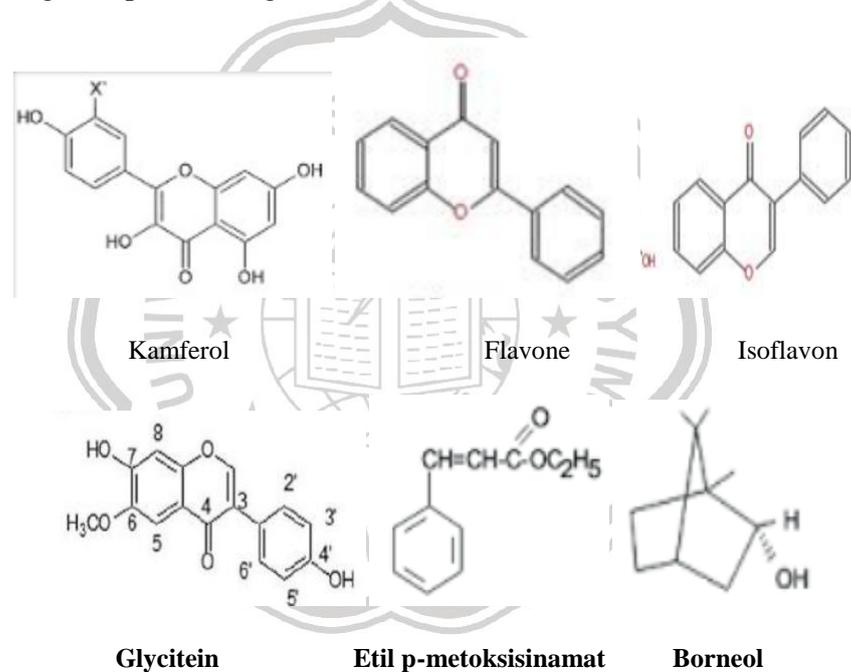
**Gambar 4 . Estrogen (Matthews and Gustafsson, 2003).**

Kolesterol merupakan senyawa kimia alami tubuh yang berperan dalam banyak proses metabolisme dalam tubuh. estrogen juga merupakan faktor penting dalam homeostasis kolesterol dengan meregulasi fungsi mitokondrial hepar. Estrogen yang berinteraksi dengan reseptor estrogen berperan dalam peningkatan HDL, penurunan kolesterol total, LDL, dan trigliserida (Gruber *et al.*, 2002). Penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida disebabkan oleh aktivitas estrogen dalam meningkatkan transkripsi reseptor kolesterol total. Semakin tinggi reseptor kolesterol total yang terbentuk, semakin turun kadar kolesterol total dalam darah (Meyer *et al.*, 2006).

## 8. Fitoestrogen

Kata fitoestrogen atau phytoestrogen berasal dari kata "phyto" yang berarti tanaman, dan "estrogen" yang merupakan hormon alami pada wanita yang mempengaruhi organ reproduksi. Fitoestrogen dapat diartikan sebagai senyawa alami dari tanaman yang mampu mempengaruhi aktivitas estrogenik tubuh. Fitoestrogen adalah senyawa turunan dari tumbuhan yang mempunyai cincin fenolik yang dapat berikatan dengan reseptor estrogen sehingga menghasilkan efek estrogenik (Duffy *et al.*, 2010). Fitoestrogen merupakan senyawa non steroid yang dapat berikatan dengan

reseptor estrogen ( $\alpha$  dan  $\beta$ ) karena memiliki konformasi struktur yang menyerupai struktur estradiol dan dapat berefek estrogenik pada jaringan target (Cederrothet *al*,2007). Senyawa fitoestrogen yang terkandung dalam tanaman antara lain flavonoid, *coumestan*, lignan, dan stilben (Ross and Kasum, 2002). Flavonoid antara lain flavon (apigenin), flavonol (kuersetin, kaempferol, *myricetin*), flavanon (naringenin), isoflavon (genistein, daidzein, equol), dan antosianidin (Benassayag *et al.*, 2002). Struktur kimia fitoestrogen dapat dilihat gambar 5.



**Gambar 5. Beberapa Contoh Struktur Fitoestrogen (Ross and Kasum,2002).**

## 9. Ovariektomi

Hewan yang paling umum digunakan untuk menyelidiki kolesterol adalah tikus karena murah, mudah diperoleh, tumbuh pesat, banyak tersedia

dan masyarakat umum sudah terbiasa dengan peran tikus untuk digunakan *research*. Ovariectomi merupakan metode pengangkatan ovarium dengan cara operasi. Ovariectomi pada tikus betina dapat dilakukan dengan berbagai cara dan pemilihan metode operasi untuk ovariectomi sangat penting, terutama jumlah hewan yang sangat tinggi dan durasi percobaan pendek. Ada terutama dua jenis sayatan untuk melakukan ovariectomi pada tikus betina yaitu dua sayatan kulit punggung dan satu sayatan *dorsolateral* (Khajuria *et al*, 2012).

## 10. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair (Depkes RI, 2000). Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati maupun hewani dengan menggunakan cairan penyari yang sesuai, kemudian semua cairan penyari tersebut diuapkan dan massa yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang sudah ditetapkan (Depkes RI, 1995).

Standarisasi proses ekstraksi bertujuan untuk memurnikan zat aktif dari zat lain dengan menggunakan pelarut tertentu. Proses standarisasi juga sangat berpengaruh pada kualitas obat herbal. Alkohol (metanol, etanol), aseton, dietil eter dan etil asetat adalah zat yang sering digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi, sebagai contoh ekstraksi asam fenolik yang

sangat polar (benzoik, asam sinamik) disarankan mencampur pelarut dengan air. Untuk zat yang kurang polar seperti minyak, asam lemak dan klorofil yang sering digunakan adalah diklorometan, kloroform, hexan atau benzen. Penggunaan alkohol 70% dalam proses ekstraksi akan meningkatkan jumlah kandungan zat yang terdapat didalam suatu ekstrak tanaman. Faktor lain yang mempengaruhi proses ekstraksi diantaranya adalah keasaman (pH), suhu dan perbandingan sampel dengan pelarut (Depkes RI, 1995).

Macam metode penyarian yang dapat digunakan, yaitu:

1. Cara dingin

- a. Maserasi

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari pada suhu 15-20°C. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Prinsip dari metode maserasi adalah merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari, kemudian cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk sehingga zat aktif larut, kemudian larutan yang pekat akan terdesak keluar. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang sederhana.

Kerugiannya adalah cara pengerjaannya lama dan penyarian yang kurang sempurna (Depkes RI, 1986).

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan cara penyarian dengan menggunakan alat yang disebut perkolator yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Cara kerja dari perkolasi yaitu dengan menempatkan serbuk simplisia dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut. Cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jernih (Depkes RI, 1986).

2. Cara panas

a. Refluks

Ekstraksi menggunakan cairan penyari pada titik didihnya selama waktu tertentu. Jumlah cairan penyari yang digunakan terbatas dan relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses residu pertama 3-5 kali hingga proses ekstraksi sempurna.

b. Sokhletasi

Sokhletasi adalah ekstraksi yang dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinue. Jumlah cairan penyari relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

c. Digesti

Digesti merupakan maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinue) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar, umumnya pada temperatur 40-50°C.

d. Infus

Ekstraksi dengan cairan penyari berupa air, pada temperatur 96-98°C selama 15-20 menit di atas penangas air (Ditjen POM, 2000).

3. Cairan Penyari

Cairan penyari diperlukan dalam proses pembuatan ekstrak untuk memisahkansenyawa aktif dari tanaman yang akan diekstrak (Depkes RI, 2000). Cairan penyari yang digunakan pada pembuatan ekstrak rimpang kencur adalah etanol 70%. Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena lebih selektif, tidak mudah ditumbuhi kapang dan jamur, tidak beracun, netral dan absorbsinya baik (Depkes RI, 1986).

**F. Landasan Teori**

Fitoestrogen merupakan senyawa dalam tanaman yang memberikan efek estrogenik. Mekanisme utama fitoestrogenik adalah dengan berikatan dengan Reseptor Estrogen (ER). Kandungan kimia tanaman kencur yaitu etil sinamat, etil p-metoksisinamat, p-metoksistiren, karen, borneol, dan parafin (Duffy *et al*, 2010). Estrogen menurunkan resiko penyakit kardiovaskuler seperti didapat pada terapi sulih hormon. Khasiat protektif ini berkaitan dengan perubahan kadar lipid yaitu penurunan kolesterol serta efek vaskuler baik berupa vasomotor dan dinding

pembuluh darah. Wanita pascamenopause fitoestrogen bersifat sebagai agonis estrogen namun juga dapat berefek sama seperti estrogen. Penelitian ini membuktikan senyawa flavonoid mampu mengubah kadar lipid dalam darah (Judith, *et al* 2002).

Isolasi flavonoid umumnya dilakukan dengan metode ekstraksi seperti maserasi, sokletasi dan perkolasi menggunakan pelarut yang dapat melarutkan flavonoid. Pada umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar. Oleh karena itu pada proses ekstraksinya untuk tujuan skrining maupun isolasi, umumnya menggunakan pelarut methanol atau ethanol. Hal ini disebabkan karena pelarut ini bersifat melarutkan senyawa-senyawa mulai dari yang kurang polar sampai dengan yang polar (Monache, 1996). Flavonoid berupa senyawa yang larut dalam air. Mereka dapat diekstraksi dengan etanol 70% (Harborne, 1987).

Flavonoid merupakan salah satu senyawa fitoestrogen (Bennassayag *et al*, 2002). Penelitian ilmiah mengenai efek estrogenik rimpang kencur sudah dilakukan melalui uji *in silico* (Setyaningsih, 2016). Hasilnya diketahui bahwa etil p-metoksisinamat memiliki afinitas yang baik pada reseptor estrogen  $\beta$ , sehingga efek estrogenik rimpang kencur diduga mampu menurunkan kolesterol.

Isoflavon yang tergolong ke dalam flavonoid merupakan antioksidan. Etil p-metoksisinamat merupakan salah satu jenis flavonoid bersifat inhibitor ekstra seluler pembentukan adiposit. Sedangkan kandungan kimia alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, musilago, dan damar diduga dapat mendegradasi lemak dan menurunkan kadar trigliserida dalam darah (Dammanik, 2009). Sehingga efek estrogenik rimpang kencur diduga mampu menurunkan kolesterol dan trigliserida.

Percobaan dilakukan secara *in vivo* menggunakan model hewan uji tikus terovariektomi.

### G. Hipotesis

1. Ekstrak etanol rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) mampu menurunkan kolesterol total dalam darah tikus betina *Wistar* terovariektomi.
2. Ekstrak etanol rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) mampu menurunkan trigliserida dalam darah tikus betina *Wistar* terovariektomi

