

## The Effect Of Sipatah-patah (*Cissus quadrangularis* Salisb) Extract On The Femur Bone Density of White Rat (*Rattus norvegicus*) with Model Ovariectomy

Mustafa Sabri<sup>1</sup>, Debby Novita Ayumi<sup>2</sup>, Muhammad Jalaluddin<sup>1</sup>, Hamny<sup>1</sup>, Cut Dahlia Iskandar<sup>3</sup>, Herrialfian<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh,

<sup>2</sup>Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh,

<sup>3</sup>Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh,

<sup>4</sup>Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

E-mail: [debbynovitaayumi@gmail.com](mailto:debbynovitaayumi@gmail.com)

### ABSTRACT

*This research aimed to determine the effect of giving Sipatah-patah extract toward the histopathological and femur bone growth of white rat that was ovariectomized. The experimental animals that were used were 12 white rats divided into 4 treatment group with 3 repetitions. K0 was the ovariectomized rat without giving Sipatah-patah extract (ESP); K1, K2 and K3 were ovariectomized rats which were given Sipatah-patah extract with multilevel doses of 500 mg/kg BW, 700 mg/kg BW and 900 mg/kg BW for 30 days. On the 31st day, rats were euthanized using chloroform and os femur that was taken to be made into histological preparation. There was the decrease in the bones density of the K0 group which is characterized by thinning of trabecular structure, there were lots of osteoclast cells on the edge of the trabecular and lower density of active osteoblasts and passive osteoblasts. The rat of group K1 and K2 showed an improvement on the trabecular structure and lower osteoclast than group K0. The rat of group K3 had a visible improvement of the most congested trabecular structures, cohesive with the most density cell of active osteoblasts than the other groups. The result of this research concluded that the giving of Sipatah-patah extract doses 900 mg/kg BW showed a higher density of trabecular and active osteoblasts than the control group, K1 and K2 on the white rat bones that were ovariectomized.*

**key words** : white rat, ovariectomy, Sipatah-patah extract, os femur, trabecular, osteoclast and osteoblast cells.

### PENDAHULUAN

Tulang adalah organ keras yang berfungsi sebagai alat gerak pasif, menjadi tempat pertautan otot, tendo dan ligamentum (Leeson dkk., 1996). Menurut Martin (1993), tulang selain berfungsi sebagai kerangka penopang sistem muskulo-skeletal, pendukung lokomotif dan pelindung organ vital, juga berfungsi sebagai tempat penyimpanan sebagian besar kalsium (Ca) tubuh, berperan mempertahankan Ca darah dalam kisaran normal melalui keseimbangan antara resorpsi tulang oleh osteoklas dan pembentukan tulang oleh osteoblas selama proses *remodeling* tulang.

Sepanjang hidup, tulang secara berkala akan mengalami pembentukan kembali (*remodeling*). Proses ini meliputi resorpsi

dan formasi. Pada saat resorpsi, tulang yang tua akan hancur dan akan dipindahkan oleh sel osteoklas. Pada saat formasi, jaringan tulang yang baru akan menggantikan tulang yang telah rusak, dan hal ini dilakukan oleh sel osteoblas. Fungsi osteoklas dan osteoblas diatur oleh kalsitonin, hormon paratiroid, vitamin D, estrogen dan testosteron (Trihapsari, 2009).

Estrogen mempengaruhi kehilangan massa tulang baik secara langsung dengan mengikat reseptor pada tulang dan secara tidak langsung dengan memengaruhi hormon pengatur kalsium (PTH dan Vitamin D) dan sitokin interleukin (IL-1, IL-6 dan TNF- $\alpha$ ) (Potu dkk., 2009). Menurut Sabri (2011), estrogen yang menurun mempengaruhi penurunan penyerapan kalsium pada usus yang berdampak pada

gangguan keseimbangan kalsium dalam darah. Kalsium darah turun mengakibatkan reabsorpsi kalsium pada tulang meningkat.

Organ penghasil hormon estrogen antara lain adalah ovarium, korteks adrenal, dan pada sel-sel adiposit dimana pada organ tersebut akan menghasilkan estrogen pada saat ovarium tidak memproduksi estrogen (Nelson dan Bulun, 2001). Hartiningsih dan Widiyono (2010), mengemukakan bahwa proses ovariectomi dapat menurunkan kadar hormon estrogen, hal ini dikarenakan ovarium sebagai penghasil utama hormon estrogen tidak berfungsi, sehingga kadar estrogen pada tikus model ovariectomi akan menurun secara drastis. Penurunan estrogen akan menyebabkan aktifitas resorpsi tulang menjadi tinggi (Mahaputra, 2002)

Sejak dahulu, masyarakat telah mengenal beberapa tanaman untuk mengobati berbagai macam penyakit. Di India, Sri Lanka, dan Malaysia *Cissus quadrangularis* Linn (Cq) banyak dipakai untuk mengatasi sakit sendi, sipilis, penyakit kelamin, dan osteoporosis (Shirwaikar dkk., 2003).

Sipatah Patah (*Cissus quadrangularis* Salisb) merupakan tanaman tradisional yang ditemukan di Aceh. Tanaman ini mengandung kalsium, fosfat, dan fitoestrogen yang sangat mujarab dipakai sebagai obat patah tulang (Sabri dkk., 2009). Mengingat besarnya potensi tanaman sipatah-patah dan khasiat yang dikandungnya sebagai obat patah tulang, *C. quadrangularis* Salisb yang ada di Aceh diduga berpotensi juga sebagai antiosteoporosis, seperti halnya Cq yang ada di India (Shirwaikar dkk., 2003).

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Sabri (2011), menunjukkan bahwa tulang tibia-fibula dari tikus yang diberikan ekstrak etanol daun sipatah-patah dengan dosis 750 mg/kg BB selama 150 hari memiliki densitas osteoblas yang lebih tinggi, namun kepadatan osteoklas yang

lebih rendah dibanding dengan tikus kelompok lain yang diberikan ekstrak sipatah-patah dengan dosis lebih rendah.

## MATERI DAN METODE

### Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan 12 ekor tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) umur 5 bulan dari galur *Sprague Dawleys* dengan bobot badan 250 g. Seluruh tikus dalam kelompok diberikan perlakuan ovariectomi. Hewan coba terdiri dari 4 kelompok perlakuan dengan 3 ulangan. ESP diberikan dengan dosis bertingkat seperti di dalam Tabel 1. Pada akhir masa perlakuan, seluruh tikus di eutanasia menggunakan klorofom, dilakukan pembedahan dan diambil tulang femur, kemudian dilakukan pembuatan preparat histologi dan pewarnaan Hemakosilin-Eosin (HE). Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 4x dan 100x.

### Prosedur Penelitian

#### Pembuatan ekstrak Sipatah-patah.

Pembuatan ESP dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Unsyiah. Tanaman Sipatah-patah (*Cissus quadrangularis* Salisb) di ambil dari Desa Neuhen, Kecamatan Masjid Raya, Kabupaten Aceh Besar, Provinsi Aceh. Bagian tanaman sipatah-patah yang diambil adalah batang yang kemudian dipotong-potong sepanjang sekitar 1 cm, lalu diangin-anginkan hingga kering, dalam penelitian ini diperlukan 5 kg batang kering tanaman sipatah-patah. Setelah kering, batang sipatah-patah kemudian dihaluskan dengan penggilingan sehingga menjadi serbuk. Serbuk ini kemudian dimaserasi dengan menggunakan etanol 96%. Ekstrak cair sipatah-patah tersebut selanjutnya dikentalkan dengan

rotavapor (Hahnvapor HS-2005 S<sup>®</sup>Korea) pada suhu 65°C sehingga mendapatkan ekstrak sipatah-patah yang kental sebanyak 50,25 gram. Ekstrak tersebut kemudian dicampur dengan bahan pengikat CMC 1% dengan pembanding sesuai dengan dosis perlakuan.

### Persiapan hewan coba

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah 12 ekor tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) umur 5 bulan dari galur *Sprague Dawleys* dengan bobot badan 250 g, terdiri dari 4 kelompok perlakuan dengan 3 ulangan dan 1 ekor tikus normal sebagai pembanding (kontrol positif). Seluruh tikus dalam kelompok dilakukan ovariektomi. Ovariektomi dilakukan melalui sayatan kulit pada sisi lateral kearah dorsal. Anastesi dilakukan dengan menggunakan Ketamin dosis 50-150 mg/kg BB secara intramuskular.

Selanjutnya rambut di area bedah dicukur pada sisi lateral tubuh tikus, pada daerah sayatan dilakukan desinfeksi dengan alkohol 70% dan iodine tincture. Sayatan dilakukan pada area bedah yaitu 2 cm mengikuti tulang belakang dan berjarak 1,5 cm dari tulang belakang, dicari ovarium kemudian ikat dengan benang *cat gut*. Ovarium yang telah diikat lakukan pemotongan kemudian disisihkan. Langkah selanjutnya menjahit otot dengan *cromik cat gut* dengan tipe jahitan sederhana terputus dan menjahit kulit dengan benang *silk* dengan tipe jahitan sederhana terputus. Untuk pemulihan luka pada tikus berlangsung selama 10 hari dan diberikan gentamicine sebagai antibiotik.

### Perlakuan pemberian ekstrak Sipatah-patah (*Cissus quadrangula Salisb*)

Ekstrak sipatah-patah (ESP) diberikan per-oral menggunakan sonde lambung

dengan volume pemberian masing-masing 1 ml, dengan dosis pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Dosis ekstrak sipatah-patah yang diberikan pada setiap tikus Perlakuan/hari.

Perlakuan Pemberian Ekstrak Sipatah-patah			
K0	K1	K2	K3
-	500 mg/kg BB	700 mg/kg BB	900 mg/kg BB

Keterangan : K0 : Kontrol (0); K1 : Ekstrak Sipatah-patah dengan dosis 500 mg/kg BB; K2 : dosis 700 mg/kg BB; K3 : dosis 900 mg/kg BB.

### Pembuatan preparat histologis tulang femur.

Pada akhir masa perlakuan (hari ke 31) semua tikus dieuthanasia dengan menggunakan klorofom, kemudian dilakukan pembedahan dan diambil tulang femur. Tahapan pembuatan preparat histologi meliputi proses *fiksasi, dekalsifikasi, dehidrasi, clearing, infiltrasi, embedding*, dan *sectioning*. Untuk membuat preparat histologi, tulang femur yang telah difiksasi dengan larutan BNF selama 2x24 jam. Kemudian dilakukan proses *dekalsifikasi* menggunakan asam nitrat 5% selama 3 minggu dan *stopping point* dalam alkohol 70% selama 12 jam, lalu dilakukan *dehidrasi* dengan alkohol bertingkat 80%, 90%, 95%, dan alkohol absolut masing-masing selama 2 jam. Jaringan kemudian dijernihkan (*Clearing*) dalam cairan silol I, silol II, dan silol III masing-masing selama 45 menit. Selanjutnya jaringan diinfiltrasi dalam parafin cair I, parafin cair II, dan parafin cair III masing-masing selama 45 menit, kemudian dilakukan proses *embedding* dalam parafin blok. Jaringan di

dalam blok parafin disayat dengan ketebalan 5  $\mu\text{m}$  dan irisan diletakkan pada *tissue bath*, lalu diambil dengan *object glass* untuk selanjutnya diinkubasikan kedalam *slide warmer*. Pewarnaan Hematoksin Eosin dilakukan dengan metode Kiernan (1990), kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran lensa objektif 4 kali dan 100 kali.

### Analisis Data

Data hasil penelitian efek pemberian ekstrak Sipatah-patah (*Cissus quadrangularis* Salisb) pada densitas tulang femur tikus putih (*Rattus norvegicus*) model ovariektomi akan di analisa secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk gambar.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

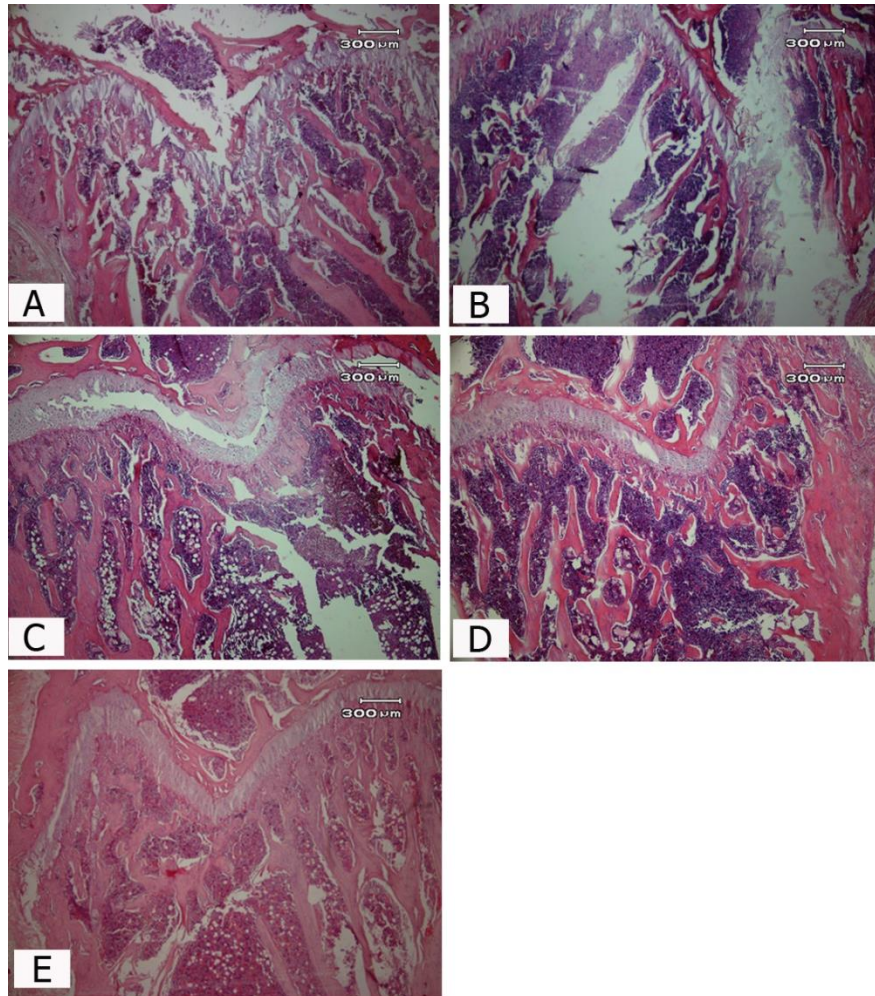
Hasil pemeriksaan densitas tulang femur tikus yang ovariektomi dibandingkan dengan tikus normal memperlihatkan gambaran trabekula, sel osteoblas aktif, sel osteoblas pasif dan sel osteoklas yang berbeda. Gambaran histopatologi tulang femur tikus menunjukkan adanya perbedaan struktur trabekula, pada kelompok kontrol ovariektomi (K0) terjadi penurunan densitas tulang (Gambar 1B) dibandingkan dengan tikus normal (Gambar 1A), kelompok tikus perlakuan K1, K2 dan K3. Hal ini ditandai dengan penipisan struktur trabekula, jarak yang lebar antara satu trabekula dengan trabekula lain, dan rongga sumsum tulang yang lebih luas.

Menurut Hartiningsih dan Aji (2012), rongga sumsum tulang yang lebih luas diduga terkait dengan rendahnya konsentrasi estrogen pada tikus ovariektomi. Ovariektomi dikondisikan agar menyerupai

wanita paska menopause dimana terjadi penurunan estrogen yang dihasilkan oleh ovarium. Penurunan estrogen akan menyebabkan aktifitas resorpsi tulang menjadi tinggi (Mahaputra, 2002). Woo dkk., (2005) menyatakan bahwa ovariektomi dapat menimbulkan efek pengeroposan tulang terutama pada daerah trabekula. Osteoporosis akan terus terjadi dan mengalami penipisan trabekula selama masa inkubasi setelah ovariektomi.

Menurut Kusec dkk., (1998) dan Nilsson dkk., (1998) estrogen bekerja langsung pada pertumbuhan tulang longitudinal dan pembentukan tulang melalui  $\text{ER}\alpha$  (Reseptor Estrogen  $\alpha$ ) dan  $\text{ER}\beta$  (Reseptor Estrogen  $\beta$ ) yang terdapat pada permukaan tulang trabekula. Syed dkk., (2008) melaporkan bahwa defisiensi estrogen menyebabkan hilangnya atau tidak adanya struktur trabekula. Pada kondisi defisiensi estrogen terjadi ketidakseimbangan remodeling tulang, dan proses resorpsi tulang oleh sel osteoklas lebih dominan daripada proses pembentukan tulang oleh sel osteoblas (Baziad, 2003).

Gambaran trabekula tulang femur yang diberikan Cq dosis 500 mg/kg BB (K1) dan dosis 700 mg/kg BB (K2) memperlihatkan perbaikan struktur trabekula (Gambar 1C dan 1D), yang ditandai dengan rongga yang terbentuk diantara trabekula lebih sempit dibandingkan dengan kelompok control (K0). Pada kelompok K3 (dosis 900 mg/kg BB) terlihat perbaikan struktur trabekula yang paling padat, kompak, mulai menyambung dan membentuk garis trayektori yang terlihat menuju arah proksimal dari tulang femur (Gambar 1E) dibandingkan kelompok tikus normal, tikus kontrol ovariektomi, kelompok perlakuan K1 dan K2.



**Gambar 1.** Gambaran densitas trabekula femur tikus, T (Trabekula). (A) Tikus Normal (tikus yang tidak diovariectomi dan tidak diberikan ekstrak Sipatah-patah), (B) Tikus kontrol ovariektomi (tikus yang diovariectomi dan tidak diberikan ekstrak Sipatah-patah), (C) Tikus perlakuan ovariektomi dengan pemberian ekstrak Sipatah-patah dosis 500 mg/kg BB, (D) Tikus perlakuan ovariektomi dengan pemberian ekstrak Sipatah-patah dosis 700 mg/kg BB, (E) Tikus perlakuan ovariektomi dengan pemberian ekstrak Sipatah-patah dosis 900 mg/kg BB dengan pembesaran lensa objektif 4 kali.

Ekstrak *C. quadrangularis* dapat meningkatkan ketebalan kortikal dan trabekula pada tulang femur fetus tikus (Rao dkk., 2007). Meningkatkan kualitas tulang pada tikus ovariektomi dengan adanya peningkatan ketebalan kortikal dan trabekula tulang. Penelitian tersebut menunjukkan

bahwa ekstrak batang sipatah-patah dapat membantu proses osteogenesis dan perbaikan jaringan tulang (Ceriana dkk., 2014).

Pertumbuhan tulang secara mikroskopis dapat dilihat berdasarkan densitas osteoblas dan osteoklas. Osteoblas

dan osteoklas dapat dijadikan petunjuk kondisi apakah terjadi proses *modeling* atau *remodeling* (Sabri, 2013). Hasil pengamatan

densitas sel osteoblas aktif, osteoblas pasif dan osteoklas disajikan pada Tabel 2.

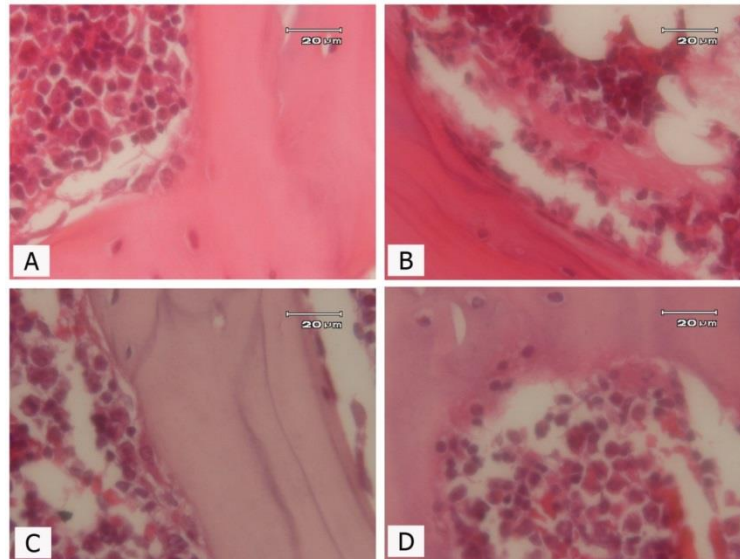
**Tabel 2.** Densitas sel osteoblas aktif, osteoblas pasif dan osteoklas.

Perlakuan		Osteoblas Aktif	Osteoblas Pasif	Osteoklas
K0	K0 <sub>1</sub>	+	+	+++
	K0 <sub>2</sub>	+	+	++
	K0 <sub>3</sub>	-	+	+++
K1	K1 <sub>1</sub>	+	++	++
	K1 <sub>2</sub>	+	++	++
	K1 <sub>3</sub>	++	+	++
K2	K2 <sub>1</sub>	++	++	+
	K2 <sub>2</sub>	++	+	++
	K2 <sub>3</sub>	++	++	+
K3	K3 <sub>1</sub>	+++	+	+
	K3 <sub>2</sub>	+++	++	+
	K3 <sub>3</sub>	+++	+	-

Keterangan = (-) Negatif, (+): sedikit, (++) : banyak, (+++): sangat banyak.

Pada tikus kontrol ovariektomi (K0) sel osteoklas terlihat sangat banyak ditepi trabekula, beberapa sel osteoklas terlihat memfagosit trabekula sehingga menyebabkan struktur trabekula yang menipis dan membentuk rongga sumsum

tulang yang lebar (Gambar 2A). Tikus kelompok K0 juga memperlihatkan densitas osteoblas aktif dan osteoblas pasif yang lebih rendah dibandingkan dengan tikus normal, kelompok tikus perlakuan K1, K2 dan K3.



**Gambar 2.** Gambaran sel osteoblas aktif, osteoblas pasif, dan sel osteoklas dengan pembesaran lensa objektif 100 kali. (A) Tikus kontrol ovariektomi yang tidak diberikan ekstrak Sipatah-patah, (B) Tikus perlakuan ovariektomi dengan pemberian ekstrak Sipatah-patah dengan dosis 500 mg/kg BB, (C) Tikus perlakuan ovariektomi dengan pemberian ekstrak Sipatah-patah

dengan dosis 700 mg/kg BB, (D) Tikus perlakuan ovariektomi dengan pemberian ekstrak Sipatah-patah dengan dosis 900 mg/kg BB. Osteoblas aktif (oa), Osteoblas pasif (op), dan osteoklas (ok).

Menurut Prasetya (2012) penurunan densitas tulang dikarenakan adanya peningkatan dari aktivitas sel osteoklas yang dipengaruhi oleh penurunan kadar hormon estrogen dalam tubuh sehingga faktor aktivasi sel osteoklas akan terus muncul. Sedangkan sel osteoblas tidak dapat mengimbangi peningkatan aktivitas dari sel osteoklas. Osteoporosis terjadi ketika dilakukan pengambilan ovarium (ovariektomi), sebab pada kondisi hilangnya ovarium, hormon estrogen akan mengalami penurunan dan dapat mempengaruhi peningkatan penyerapan kalsium tulang. Semakin lama inkubasi pascaovariektomi, maka akan semakin parah kerusakan dari struktur dan densitas dari tulang.

Defisiensi estrogen yang menyebabkan terjadinya osteoklastogenesis akibat peningkatan sekresi sitokin seperti: Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6) dan Tumor Necrosis Factor-Alpha (TNF- $\alpha$ ), merupakan sitokin yang berfungsi dalam penyerapan tulang (Masyitha, 2006). Ketika terjadi defisiensi estrogen, maka monosit tidak bisa menghentikan kerja dari faktor-faktor aktivasi osteoklas. Osteoklas akan mengalami peningkatan aktifitas sehingga akan mengalami diferensiasi dan akan teraktivasi. Kemudian akan melakukan fagosit sel tulang oleh osteoklas sehingga tulang akan menjadi keropos dan terjadi penurunan densitas tulang (Pratomo, 2012).

Kelompok tikus dengan perlakuan K1 memperlihatkan densitas osteoklas yang lebih rendah dibandingkan dengan K0, yang disertai dengan terdapatnya osteoblas aktif walaupun masih banyak terlihat osteoblas pasif (Gambar 2B). Pada tikus kelompok K2 terlihat densitas tulang yang menyerupai densitas tulang pada tikus normal, terlihat dari struktur trabekula yang sama dengan

tikus normal dengan densitas osteoklas yang lebih rendah dan densitas osteoblas aktif yang lebih tinggi dibandingkan dengan tikus K0 dan K1 (Gambar 2C). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak sipatah-patah dosis 700 mg/kg BB selama 60 hari memberikan hasil yang baik dan sesuai dengan hasil penelitian Fefridayanti (2012) yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak sipatah-patah (*Cissus quadrangularis* Salisb) dengan dosis 700 mg/kg BB menunjukkan densitas osteoblas yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Djuwita dkk., (2012), melaporkan bahwa ekstrak batang sipatah-patah dapat membantu proses osteogenesis dengan terjadinya proliferasi dan diferensiasi sel tulang menjadi osteoblas. Kandungan fitoestrogen yang tinggi pada tanaman sipatah-patah dapat berikatan lebih banyak pada reseptor estrogen sehingga menstimulasi osteoblas untuk mensekresikan faktor pertumbuhan (Growth factor/GF) pada tulang yang mengakibatkan proliferasi osteoblas (Anggraini, 2008).

Sel osteoblas memiliki reseptor estrogen alpha dan betha (ER $\alpha$  dan ER $\beta$ ) di dalam sitosol, dan estrogen bekerja pada kondrosit lempeng pertumbuhan melalui ER $\alpha$  and ER $\beta$  (Weise dkk., 2001). Di sisi lain estrogen akan merangsang ekspresi dari osteoprotegerin (OPG) dan Transforming Growth Factor-b (TGF-b) pada sel osteoblas dan sel stroma, yang lebih lanjut akan menghambat penyerapan tulang dan meningkatkan apoptosis dari sel osteoklas (Bell, 2003).

Proses remodeling berawal sel osteoblas mulai mensintesis dan mensekresikan osteoid yang menghasilkan kolagen. Selama awal osifikasi

intramembranous, osteoblas dikelilingi oleh sebagian matriks yang dimineralisasi dan berisi serabut kolagen. Osteoid banyak diproduksi, diikuti oleh mineralisasi lengkap sehingga sebagian osteoblas menjadi terisolasi di lakuna dan menjadi osteosit. Didalam osteosit terjadi akumulasi ion kalsium dijaga dalam bentuk dihidroksiapatit, dan akan kembali dilepas dalam darah ketika Ca darah turun. Dari pusat osifikasi osteosit kemudian menyebar ke beberapa arah membentuk trabekular (Samuelson, 2007).

Densitas osteoblas aktif yang lebih tinggi disebabkan karena adanya proses *modeling* dan *remodeling* yang masih berjalan akibat pengaruh fitoestrogen dalam ekstrak sipatah-patah yang berpengaruh pada aktifitas osteoblas dan osteoklas (Sabri, 2011). Kandungan senyawa fitoestrogen dalam tanaman Cq diduga berfungsi menggantikan aktifitas estrogen dalam tubuh pada saat terjadi defisiensi kadar estrogen (Wirakusumah, 2003). Selain itu, fitoestrogen yang ada dalam *Cissus quadrangularis* tersebut juga berperan dalam meningkatkan densitas osteoblas (Jainu dkk., 2006).

Kelompok tikus dengan perlakuan K3 memperlihatkan densitas sel osteoblas aktif yang paling banyak dibandingkan dengan kelompok lain. Sel osteoblas pasif dan sel osteoklas sangat jarang dan hampir tidak terlihat ditepi trabekula (Gambar 2D). Hal ini menunjukkan bahwa pada semakin tinggi dosis terapi yang diberikan semakin tinggi pula sel osteoblas aktif yang terlihat ditepi trabekula yang mengakibatkan perbaikan struktur trabekula yang lebih baik, dan dosis terapi 900 mg/kg BB merupakan dosis yang menunjukkan perubahan struktur yang paling baik dan paling padat dibandingkan dengan kelompok tikus perlakuan lainnya.

Sejalan dengan penelitian Samuels dkk., (2000) dosis estrogen yang tinggi akan semakin meningkatkan fisiologi

osteogenesis melalui reseptor estrogen. Fitoestrogen dapat terikat pada reseptor estrogen dan menstimulasi proliferasi sel osteoblas (Yamaguchi, 2002). Walaupun dosis 900 mg/kg BB dapat memberikan hasil yang paling baik dan menunjukkan densitas tulang yang lebih padat dibandingkan dengan kelompok tikus lainnya, akan tetapi dosis tersebut belum dapat dikatakan sebagai dosis maksimal yang aman sebagai dosis terapi karena belum dilakukan penelitian terhadap dosis letal, dan efek samping dari dosis tersebut. Seperti yang dinyatakan oleh Cunningham (1992) bahwa kondisi kalsium dapat dikatakan optimum jika pemberian ESP secara terus menerus tidak meningkatkan kadar kalsium dalam darah, melainkan mendeposisi kalsium pada tulang atau kelebihan kalsium yang diekskresikan melalui ginjal.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak sipatah-patah dosis 900 mg/kg BB menunjukkan densitas trabekula dan osteoblas aktif yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol, K1 dan K2 pada tulang femur tikus putih yang diovariectomi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, W. 2008. Fitoestrogen sebagai alternatif alami terapi sulih hormon untuk pengobatan osteoporosis primer pada wanita pascamenopause. *M.I. Kedokteran Gigi*. 23(1): 25-31.
- Baziad, A. 2003. *Menopause dan Andropause*. Edisi ke-1. Yayasan Bina Pustaka, Jakarta.
- Bell, N. H. 2003. Rank ligand and the regulation of skeletal remodeling. *J. Clin. Invest.* 111:1120-1122.
- Ceriana, R., I. Djuwita, dan T. Wresdiyati. 2014. Ekstrak batang Sipatah-patah meningkatkan proliferasi dan diferensiasi sel punca mesenkimal sumsum tulang. *Jurnal Veteriner* 15(4): 436-445.



- Cunningham, J. G. 1992. **Textbook of Veterinary Physiology**. W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- Djuwita, I., A.P. Irma, W. Adi, dan M. Sabri. 2012. Proliferasi dan diferensiasi sel tulang tikus dalam medium kultur in vitro yang mengandung ekstrak batang *Cissus quadrangula* salisb (Sipatah-patah). **Jurnal Kedokteran Hewan**. 6(2):75-80.
- Fefridayanti, D. 2012. Pemberian Ekstrak Tanaman Sipatah-patah (*Cissus quadrangularis* Salisb Terhadap Gambaran Histologi Dan Densitas Tulang Lumbal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diovariectomi. **Skripsi**. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Hartiningasih., D.A, dan I. Widiyono. 2010. Pengaruh Panhisterektomi dan Konsumsi Suplemen 1,25-Dihidroksivitamin D3 Selama 1,5 Bulan Terhadap Retensi Kalsium Pada Tikus Wistar. **Laporan Penelitian**. Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Hartiningasih, D.A. dan D. Aji. 2012. Respons metafisis tulang femur distalis tikus ovariektomi yang mengkonsumsi kalsitriol. **Jurnal Kedokteran Hewan** 6(2): 92-98.
- Jainu, M., K. Vijaimohan, and D.C.S. Shyamala. 2006. Gastroprotective effect of *Cissus quadrangularis* extract in rats with experimentally induced ulcer. **J. Ethnopharmacol**. 123(6): 799-806.
- Kiernan, J. A. 1990. **Histological and Histochemical Method: Theory and Practice**. 2<sup>nd</sup> ed. Pergamon Press, New York.
- Kusec, V., A.S. Virdi, R. Prince, and J.T. Triffitt. 1998. Localization of estrogen receptor-alpha in human and rabbit skeletal tissues. **JCEM**. 83(7): 2421-2428.
- Leeson, R.C., T.S. Leeson, dan A.A. Paparo. 1996. **Buku Ajar Histologi Edisi VII**. Terjemahan Tambayong et al, EGC, Jakarta.
- Mahaputra, L. 2002. Reseptor estrogen pada mencit menopause dan masih bersiklus reproduksi. **J.B.P.** 2(4): 65-68.
- Martin, T.J. 1993. Hormones in the coupling of bone resorption and formation. **Osteoporosis Int**. 3(1): 121-125.
- Masyitha, D. 2006. Struktur mikroskopik tulang mandibula pada tikus ovariektomi dan pemberian pakan rasio fosfat/kalsium tinggi. **Media Kedokteran Hewan** 22(2): 112-117.
- Nelson, N.L, and S.E. Bulun. 2001. Estrogen production and action. **J. Am. Acad Dermatol**. 45(3): 116-124.
- Nilsson, S.K., M.S. Dooner, H.U. Weier, B. Frenkel, J.B. Lian, G.S. Stein, and P.J. Quesenberry. 1999. Cells capable of bone production engraft from whole bone marrow transplants in nonablated mice. **J. Exp. Med**. 189(4): 729-734.
- Potu, B.K., M.R.B. Kumar, M.S. Rao, G.K. Nampurath, M.R. Chamallamudi, S.R. Nayak, and M.S. Muttigi. 2009. Petroleum ether extract of *Cissus quadrangularis* (Linn.) enhances bone marrow mesenchymal stem cell proliferation and facilitates osteoblastogenesis. **Clinical Science**. 64(10): 993-998.
- Prasetya, R.O. 2012. Studi Pemberian Tepung Tulang Ikan Tuna Madidihang (*Thunnus albacares*) Pada Hewan Model Ovariectomi Tikus (*Rattus norvegicus*) Terhadap Gambaran Histopatologi Dan Ekspresi Il – 1 B Dari Caput Humeri. **Skripsi**. Program Studi Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang.
- Pratomo, F.A. 2012. Efek Pemberian Tepung Tulang Ikan Tuna Madidihang (*Thunnus albacares*) Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Ovariectomi Berdasarkan Histopatologis Tulang Femur Dan Ekspresi Tnf-A. **Skripsi**. Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Universitas Brawijaya, Malang.
- Rao, M.S., B. Kumar, V.B.N. Swamy, and N.G. Kuty. 2007. *Cissus quadrangularis* plant extract enhances the development of cortical bone and trabecular in the fetal femur. **Pharmacologyonline** 3: 190-202.
- Sabri, M., Nurhidayat, K. Sigit, B.P. Priosoeryanto, dan W. Manalu. 2009. Analysis of phytochemical and mineral content of Sipatah-patah plant (*Cissus quadrangularis*) from Aceh as osteoporosis premedication. **Jurnal Rona Lingkungan** 1(2): 109-117.
- Sabri, M. 2011. Aktivitas Ekstrak Etanol Batang Sipatah-patah (*Cissus quadrangularis* Salisb) Sebagai Antiosteoporosis Pada Tikus (*Rattus norvegicus*). **Disertasi**. Program Studi Sains Veteriner, Sekolah Pascasarjana. IPB, Bogor.
- Sabri, M. 2013. Administration's effects of ethanol extract of *Cissus quadrangularis* in ovariectomized rats. **Jurnal Natural** 13(2): 48-54.
- Samuels, A., M.J. Perry, A.E. Goodship, W.D. Fraser, and Tobias. 2000. Is high-dose estrogen-induced osteogenesis in the mouse mediated by an estrogen receptor?. **Bone**. 27(1): 41-46.
- Samuelson, D. A. 2007. **Textbook of Veterinary Histology**. Elsevier Health Sciences, London.
- Shirwaikar, A., S. Khan, and S. Malini. 2003. Antiosteoporotic effect of ethanol extract of *Cissus quadrangularis* Linn. on ovariectomized rat. **J. Ethnopharmacol**. 89(2): 245-250.
- Syed, F.A., M.J. Oursler, T.E. Hefferan, J.M. Peterson, B.L. Riggs, and S. Khosla. 2008. Effects of estrogen therapy on bone marrow adipocytes in postmenopausal osteoporotic women. **Osteoporosis Int**. 19(9): 1323-1330.
- Trihapsari, E. 2009. Faktor-faktor Yang Berhubungan Dengan Densitas Mineral Tulang Wanita  $\geq 45$  Tahun Di Departemen Pendidikan Nasional Jakarta Pusat Tahun 2009. **Skripsi**. Program Studi Kesehatan Masyarakat, Universitas Indonesia.
- Weise, M., S. De-Levi, K.M. Barnes, R.I. Gafni, V. Abad, and J. Baron. 2001. Effects of estrogen on growth plate senescence and epiphyseal fusion. **PNAS**. 98(12): 6871-6876.
- Wirakusumah, E.S. 2003. **Tips Dan Solusi Gizi Untuk Tetap Sehat, Cantik Dan Bahagia Di**

- Masa Menopause Dengan Terapi Estrogen Alami.** Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Woo, D.G., C.Y.Ko, T.W. Lee, H.S. Kim, and B.Y. Lee. 2005. long-term study for the effect of ovariectomy on rat bone - use of in-vivo micro-CT. **Journal of Health Science** 48(3): 209-222.
- World Academy of Science, Engineering and Technology.** 921-924.
- Yamaguchi, M. 2002. Isoflavone and bone metabolism : its cellular mechanism and preventive role in bone loss. **Journal of Health Science** 48(3): 209-222.