

Efek Estrogenik Rumput Kebar (*Biopyhtum Petersianum*) dalam Ekstrak Etanol 96% dan Berbagai Fraksi Pelarut

Estrogenic Effects of Kebar Grass (Biopyhtum Petersianum) in 96% Ethanol Extract and Various Solvent Fractions

Penulis Mulyati Effendi¹, Yulianita², Nina Herlina^{2*}, Wilda Nurhikmah²

Afiliasi ¹Biologi, FMIPA, Universitas Pakuan, Jl. Pakuan, Tegallega. Kecamatan Bogor Tengah, Kota Bogor. Jawa Barat 16143, Indonesia.

²Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan, Jl. Pakuan, Tegallega. Kecamatan Bogor Tengah, Kota Bogor. Jawa Barat 16143, Indonesia.

Kata Kunci

- rumput kebar
- fitoestrogen
- siklus estrus
- tikus

Keywords

- Kebar grass
- Phytoestrogen
- estrous cycle
- rat

Diterima 23 November 2021

Direvisi 16 Juli 2022

Disetujui 3 Agustus 2022

***Penulis Koresponding**

Nina Herlina

email:

nina.herlina@unpak.ac.id

ABSTRAK

Rumput Kebar digunakan secara empiris oleh masyarakat Papua untuk mengobati masalah kesuburan. Metabolit aktif yang terkandung dalam rumput kebar diduga berperan terhadap efek estrogenik. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efek estrogenik rumput kebar pada ekstrak dan fraksi yang berbeda. Sebanyak 36 ekor tikus yang digunakan dalam penelitian ini dibagi dalam 6 kelompok perlakuan yang terdiri dari 6 kali ulangan. Kelompok I (K) sebagai kelompok kontrol diberi Na CMC 1%, Kelompok II diberi etinil estradiol, Kelompok III-VI diberikan ekstrak rumput kebar (ERK); fraksi n-Heksan (FHRK); fraksi etil asetat (FERK); fraksi akuades (FARK) rumput kebar dengan dosis 4,32 mg/200 gBB tikus secara per oral selama 7 hari pemberian. Efek estrogenik diamati dengan memeriksa panjang siklus estrus dan fase estrus secara sitologis menggunakan metode apusan vagina. Swab vagina dikoleksi setiap hari selama 14 hari, diwarnai dengan Giemsa dan dilihat secara mikroskopis. Data panjang siklus dan fase estrus dianalisis secara statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) rancangan acak kelompok (RAK) dan uji lanjut Duncan dengan tingkat kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak dan fraksi etil asetat rumput kebar memiliki efek estrogenik karena mampu memperpendek siklus estrus dan meningkatkan panjang fase estrus. Efek paling besar diperoleh setelah pemberian FERK pada tikus betina.

ABSTRACT

Kebar grass is used empirically by Papuans to treat fertility problems. Active metabolites contained in kebar grass are thought to play a role in estrogenic effects. This study aims to determine the estrogenic effect of kebar grass in different extracts and fractions. A total of 36 rats used in this study were divided into 6 treatment groups consisting of 6 replicates. Group I (K) as a control group was given 1% Na CMC, Group II was given Ethinyl estradiol, Groups III-VI were given kebar grass extract (ERK); n-Hexan fraction (FHRK); ethyl acetate fraction (FERK); distilled water fraction (FARK) of kebar grass at a dose of 4.32 mg/200 gBB rats orally for 7 days of administration. The estrogenic effect was observed by examining the estrus cycle length and estrus phase cytologically using the vaginal smear method. Vaginal swabs were collected daily for 14 days, stained with Giemsa, and viewed microscopically. Data on cycle length and estrus phase were analyzed statistically using analysis of variance (ANOVA) randomized group design (RAK) and Duncan's further test with a 95% confidence level. The results showed that the administration of extracts and ethyl acetate fractions of kebar grass had estrogenic effects because they were able to shorten the estrous cycle and increase the length of the estrous phase. The greatest effect was obtained after the administration of FERK to female rats.



PENDAHULUAN

Tahap reproduksi yang sering kali ditakuti wanita adalah tahap menopause. Ovarium pada tahap menopause tidak lagi memberikan respon terhadap sinyal gonadotropin untuk mensintesis dan mensekresikan estrogen, sehingga terjadi penurunan hormone estrogen. Rendahnya kadar estrogen dampak serius diantaranya penurunan kepadatan tulang, meningkatnya resiko penyakit jantung koroner, kanker kolon, Alzheimer dan gangguan hubungan seksual (Suparni & Astutik 2016).

Terapi sulih hormon (TSH) menggunakan etinil estradiol telah terbukti dapat menangani sindrom tersebut, tetapi meningkatkan resiko kanker payudara, endotrium dan ovarium. Dengan adanya resiko dari TSH, maka perlu dicari terapi alternatif dalam mengatasi sindroma menopause tersebut. Fitoestrogen adalah zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan dan memiliki efek yang sama dengan estrogen endogen (Maheswari *et al* 2016). Fitoestrogen dapat mengurangi aktivitas estrogen dengan menghambat aktivitas reseptor ketika kadar estrogen sangat tinggi. Di sisi lain ketika kadar estrogen rendah, fitoestrogen yang terikat pada reseptor dapat memberikan efek sebagai estrogen alami (Desmawanti & Sulastri 2019). Salah satu tanaman yang berperan sebagai fitoestrogen adalah rumput kebar (*Biopythum petersianum*).

Penelitian terdahulu (Claudia 2018) telah membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol rumput kebar dosis 378 mg/200 g BB selama 7 hari dapat memperpendek siklus estrus dan meningkatkan panjang fase estrus pada tikus, akan tetapi dosis yang digunakan dalam penelitian tersebut terhitung sangat tinggi jika dikonversikan ke dosis manusia yaitu mencapai 21,17 g/70 kg BB manusia. Oleh karena itu, perlu penelitian lebih lanjut untuk memperoleh dosis yang lebih kecil.

Aminudin *et al.*, (2020) melaporkan bahwa kandungan aktif yang mendominasi rumput kebar adalah flavonoid, tannin dan saponin. Selain itu rumput kebar juga memiliki aktivitas antioksidan yang baik setara dengan vitamin C dan vitamin E. Sambodo *et al.*, (2015) menyebutkan bahwa adanya kandungan saponin, steroid, dan flavonoid berkontribusi dalam efek estrogenik. Senyawa-senyawa tersebut memiliki tingkat kepolaran yang berbeda, sehingga untuk menarik senyawa tersebut membutuhkan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda pula.

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek estrogenik rumput kebar pada ekstrak dan fraksi dengan pelarut

yang berbeda. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 96% dengan pertimbangan dapat menarik senyawa dipilih untuk menarik flavonoid, saponin, steroid lebih banyak. Tahap selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan menggunakan pelarut yang berbeda yaitu n-heksana, etil asetat, dan akuades. Efek estrogenik dilakukan pada tikus betina dengan menentukan panjang siklus dan fase estrus secara sitologi. Penelitian ini diharapkan akan meningkatkan inovasi ilmu pengetahuan dan teknologi dalam penerapan ilmu farmasi, selain itu, penelitian ini juga diharapkan dapat meningkatkan nilai guna rumput kebar sehingga lebih bermanfaat secara ekonomi.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah corong pisah (Pirex®), alat-alat gelas (Pirex®), gelas objek (Pirex®), grinder, kaca arloji, mesh 40, mikroskop, neraca analitik, pengaduk gelas, perlengkapan untuk membuat preparat apus vagina yaitu *cotton bud*, *vacuum dryer*, sonde, stopwatch, spuit, waterbath, perlengkapan kandang tikus.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu herba rumput kebar yang diperoleh dari Papua Barat, etanol 96%, etil asetat, n-hexan, akuades. Hewan coba yang digunakan yaitu tikus putih betina dan jantan galur *Sprague-Dawley*.

METODE

Tahapan penelitian meliputi pembuatan ekstrak dan fraksi, pengujian fitokimia, kadar air dan kadar abu serta uji efek estrogenik rumput kebar.

Pembuatan Ekstrak Rumput Kebar

Rumput kebar dikumpulkan, dibersihkan dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C dan diserbukkan. Ekstraksi rumput kebar menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dengan rasio 1:10. Serbuk rumput kebar sebanyak 800 g dimasukkan ke dalam botol maserasi dan diisi dengan etanol 96%, direndam selama 3x24 jam sambil dikocok 6 jam sekali selama 15 menit. Maserat disaring, filtrat dipisahkan dengan *vacuum dryer* pada suhu 30-40°C hingga diperoleh ekstrak kental rumput kebar. Ekstrak diuji karakteristik dan fitokimia. Uji karakteristik meliputi uji organoleptik, kadar air, kadar abu. Uji kadar air dilakukan dengan metode gravimetri sementara kadar abu mengacu pada metode parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat (Depkes 2000). Uji fitokimia dilakukan secara kualitatif, adapun uji fitokimia yang dilakukan adalah uji flavonoid, alkaloid, saponin, kuinon, steroid-triterpenoid, dan tanin yang mengacu pada metode uji menurut Hanani (2015).



Pembuatan Fraksi Rumput Kebar

Fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC) dengan pelarut n-Heksan (non polar), etil asetat (semi polar), dan akuades (polar). Ekstrak dilarutkan ke dalam air kemudian dicampurkan dengan n-Heksana perbandingan 1:1. Campuran dimasukkan ke dalam labu pisah kemudian dikocok secara perlahan setelah didiamkan terjadi pemisahan antara fraksi n-Heksan dengan campuran ekstrak dan air. Fraksi n-Heksan dipisahkan. Fraksi dengan pelarut n-Hexan diulangi sebanyak 3 kali. Fraksinasi dilanjutkan menggunakan etil asetat dengan proses yang sama dengan n-Heksan. Fraksi n-Heksan cair, fraksi etil asetat cair, fraksi air diuapkan menggunakan *vacuum dryer* hingga sedikit kental kemudian dikentalkan kembali dengan *waterbath*, sehingga diperoleh fraksi kental.

Uji Efektivitas Estrogenik

Prosedur ini telah mendapatkan persetujuan dari komite etik penggunaan hewan FMIPA Universitas Pakuan dengan SK Komite Etik No.82/KEPHP-UNPAK/01-2020. Uji efek estrogenik rumput kebar, meliputi tahap pra penelitian, pengambilan sampel preparat ulas vagina, kemudian penentuan efek estrogenik berupa panjang siklus dan fase estrus kumulatif dari akhir estrus sampai awal estrus berikutnya.

Pada tahap pra-penelitian dilakukan adaptasi dan penyeragaman birahi menggunakan metode *Whitten Effect*. Selama masa adaptasi selama 7 hari tikus diberi pakan dan air minum *ad libitum*. Sinkronisasi estrus pada tikus betina dilakukan dengan metode *Whitten Effect*, kantung tikus betina diletakkan di bawah kantung tikus jantan. Feromon yang terkandung dalam urin tikus jantan dapat menstimulasi sinkronisasi estrus (Whitten 1957). Ciri-ciri hewan estrus dapat dilihat dari keadaan vulva yang bengkak, berwarna merah dan basah (Byers 2012).

Sebanyak 36 ekor tikus dikelompokkan secara acak menjadi 6 kelompok. Kelompok I (K) sebagai kelompok kontrol negatif diberi Na CMC 1%, Kelompok II diberi etinil estradiol, Kelompok III-VI diberikan ekstrak rumput kebar (ERK); fraksi n-Heksan (FHRK); fraksi etil asetat (FERK); fraksi akuades (FARK) rumput kebar dengan dosis masing-masing 4,32 mg/200 gBB tikus. Pemberian sediaan uji dilakukan selama 7 hari secara oral dan pengamatan panjang siklus estrus dan fase estrus dilakukan setiap hari selama 14 hari. Pada hari ke-8 pemberian sediaan uji dihentikan, akan tetapi pengamatan terhadap siklus dan fase estrus dilanjutkan dari hari ke-8 sampai hari ke-14.

Data Panjang siklus estrus dan fase estrus diamati secara sitologi dengan memeriksa preparat *apusan vagina*. Swab vagina dikoleksi setiap hari dengan interval 2 kali sehari selama 14 hari. Swab vagina diambil dengan *cotton bud* yang telah dibasahi NaCl fisiologis 0,9% dan dimasukkan ke dalam vagina tikus. Ulas diputar 360° dengan lembut dan digulung ke dinding vagina kemudian dilepas. Ulas vagina dioleskan pada gelas objek kering dan direndam dalam 82ongerin 10% selama 5 menit, diangkat, dan dibiarkan mengering. Preparat ulas vagina diwarnai dengan Giemsa 1% selama 30 menit, dicuci pada air mengalir, kemudian dikeringkan dan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x.

Penentuan siklus estrus berdasarkan gambaran perubahan bentuk sel epitel. Fase proestrus ditandai dengan adanya sel-sel epitel berinti dan epitel terkornifikasi, fase estrus didominasi sel epitel terkornifikasi, fase metestrus ditandai adanya sel-sel leukosit diantara sel-sel epitel terkornifikasi, dan fase diestrus ditandai dengan adanya dominasi sel leukosit yang lebih banyak dibandingkan dengan sel epitel inti dan epitel terkornifikasi.

Analisis Data

Data panjang siklus dan fase estrus diolah secara statistik menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) rancangan acak kelompok (RAK), uji lanjut duncan tingkat kepercayaan 95%.

HASIL & PEMBAHASAN

Simplisia dan Ekstrak Rumput Kebar

Simplisia dan ekstrak rumput kebar memiliki kadar air sebesar 6,57 % dan 6,84%, kadar abu sebesar 4,8% dan 4,66%. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa baik simplisia maupun ekstrak positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan steroid. Aminudin *et al.* (2020) menyatakan bahwa komposisi senyawa fenolik tanaman rumput kebar didominasi oleh flavonoid, tanin, dan saponin. Adanya dominasi kandungan fenolik yang tinggi, tanaman rumput kebar berpotensi sebagai tanaman obat.

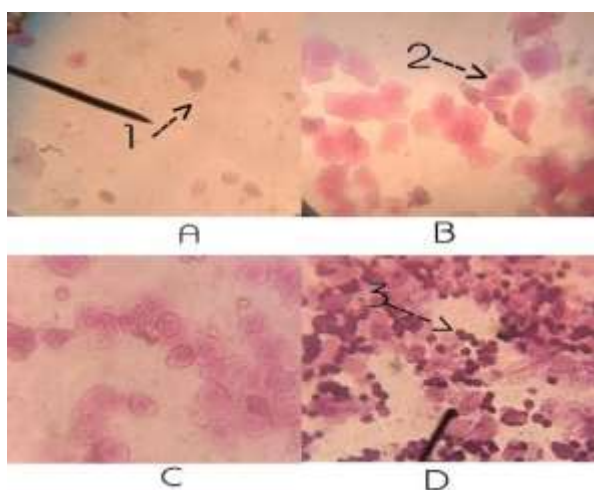
Efek ekstrak dan Fraksi Rumput Kebar Terhadap Panjang Siklus Estrus

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan efek estrogenik dari rumput kebar pada ekstrak dan fraksi yang berbeda. Efek estrogenik diamati dari siklus dan fase estrus tikus. Secara umum rata-rata panjang waktu siklus estrus pada tikus terjadi pada 4-5 hari, dimana dalam 1 siklus estrus terdapat 4 fase yaitu fase



proestrus 12 jam, estrus 12 jam, metestrus 21 jam dan fase diestrus 60-70 jam (Goldman *et al.*2007), mempersingkat waktu siklus estrus akan mempercepat terjadi fase estrus kembali selama 7 hari.

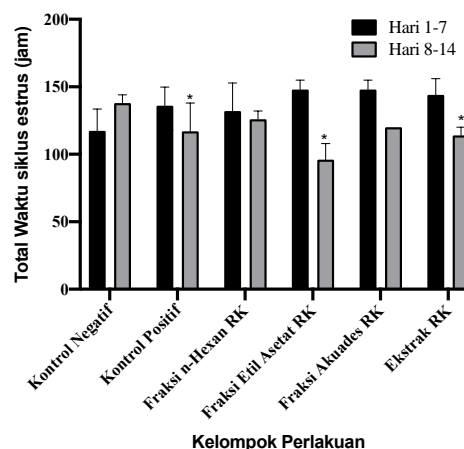
Penentuan tahapan-tahapan siklus estrus sebagaimana dimaksud pada **Gambar 1**. Fase proestrus didominasi dengan sel-sel epitel berinti yang muncul secara tunggal, stadium ini menandakan akan datangnya birahi. Fase estrus ditandai dengan adanya sel kornifikasi atau sel menanduk dimana stadium ini merupakan periode birahi. Fase metestrus ditandai dengan munculnya leukosit dan berkurangnya sel kornifikasi, stadium ini terjadi setelah ovulasi antara estrus dan diestrus. Fase diestrus ditandai dengan banyaknya leukosit yang ditemukan dan tidak adanya sel kornifikasi.



Gambar 1. Sel Epitel dalam Preparat Apus Vagina Perbesaran 400X

Keterangan: A. Proestrus, B. Estrus, C. Matestrus, D. Diestrus. 1. sel epitel berinti, 2. Sel kornifikasi, 3. Leukosit

Pengukuran panjang siklus estrus secara kumulatif dimulai dari akhir estrus sampai awal estrus berikutnya dapat dilihat pada **Gambar 2**. Pemberian FERK, FHRK dan kontrol positif pada menyebabkan panjang siklus estrus menjadi lebih pendek dibandingkan dengan kontrol negatif (123,2 jam), akan tetapi FARK dan ERK masih memiliki waktu estrus yang lebih panjang. Meskipun demikian, hasil analisis statistik menunjukkan bahwa pengaruhnya tidak berbeda signifikan ($P > 0,05$). Hal ini menyatakan bahwa pemberian sediaan uji selama 7 hari belum memperlihatkan efek yang signifikan terhadap panjang siklus estrus.



Gambar 2. Hasil pengamatan efek rumput kebar terhadap panjang siklus estrus kumulatif tikus

Keterangan : tanda (*) menyatakan berbeda signifikan terhadap kontrol negative ($P < 0,05$) tanda (#) menyatakan berbeda signifikan terhadap kontrol positif ($P < 0,05$)

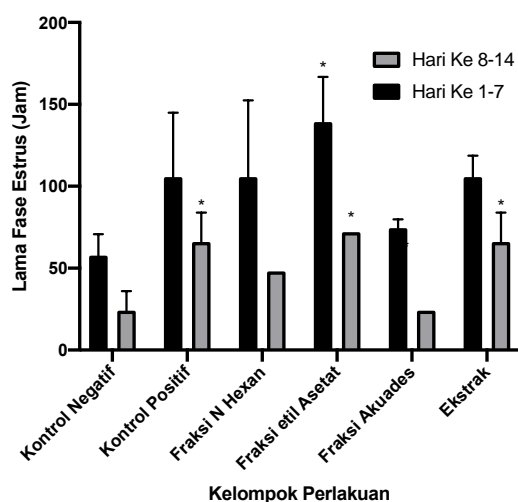
Pengamatan dilanjutkan dari hari ke-8 sampai hari ke-14, dalam waktu tersebut pemberian sediaan uji dihentikan. Hal ini ditujukan untuk melihat adanya efek dari akumulasi pemberian sediaan uji selama seminggu sebelumnya. Berdasarkan **Gambar 2** dapat dilihat bahwa kontrol negatif memiliki waktu siklus estrus paling panjang diantara semua kelompok. Meskipun semua kelompok memiliki waktu estrus yang lebih pendek dibandingkan kontrol negatif, akan tetapi hasil analisis statistik menunjukkan FERK, ERK dan kontrol positif memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan kontrol negatif ($P < 0,05$). Hal ini menyatakan bahwa FERK, ERK dan kontrol positif memiliki efek untuk memperpendek siklus estrus tikus. Kelompok yang diberi FERK memiliki efek paling tinggi dalam memperpendek siklus estrus dibandingkan dengan kelompok ERK maupun kontrol positif. Rata-rata panjang siklus estrus pada pemberian FERK yaitu 88,8 jam. Dengan memperpendek waktu siklus estrus akan mempercepat terjadi fase estrus kembali selama 7 hari.

Efek Ekstrak Dan Fraksi Rumput Kebar Terhadap Panjang Fase Estrus

Karakterisasi setiap fase didasarkan pada proporsi antara tiga jenis sel yang diamati pada apusan vagina yaitu sel epitel, sel kornifikasi dan leukosit. Berdasarkan **Gambar 3** pemberian sediaan uji dan kontrol positif menyebabkan fase estrus tikus pada semua kelompok lebih panjang dibandingkan kontrol negatif pada hari ke-1 sampai ke-7. Berdasarkan hasil analisis statistik,



hanya kelompok FERK yang memiliki fase estrus secara signifikan lebih Panjang ($P < 0,05$) kontrol negatif. Hal ini berarti bahwa FERK dapat memiliki efek terhadap panjang fase estrus pada minggu awal pemberian sediaan dengan panjang fase estrus selama 139,2 jam. Hari ke-8 pemberian sediaan uji dihentikan, akan tetapi pengamatan terhadap fase estrus tetapi dilanjutkan sampai hari ke-14. Berdasarkan **Gambar 3** dapat dilihat bahwa panjang waktu estrus hari ke-8 sampai 14 pada kelompok kontrol positif, ERK, FHRK dan FERK secara signifikan ($P < 0,05$) lebih panjang dibandingkan fase estrus kelompok kontrol negatif dan FARK. Maka dapat dinyatakan bahwa FHRK, ERK dan FERK masih memiliki efek estrogenik pada hari ke-14 meskipun pemberian perlakuan dihentikan pada hari ke-7. Fase estrus FERK paling panjang (72 jam) dan sebanding dengan kontrol positif ($P > 0,05$).



Gambar 3. Hasil pengamatan efek rumput kebar terhadap panjang fase estrus

Keterangan : tanda (*) menyatakan berbeda signifikan terhadap kontrol negative ($P < 0,05$) tanda (#) menyatakan berbeda signifikan terhadap kontrol positif ($P < 0,05$)

Efek pemberian ERK Claudia (2018) melaporkan bahwa pemberian ekstrak etanol 70% rumput kebar dosis 378 mg/200 g BB selama 7 hari memberikan efek estrogenik pada tikus dengan panjang siklus estrus dan fase estrus setelah pemberian ekstrak adalah 152 jam dan 168 jam. Hal ini sejalan dengan penelitian ini, namun panjang siklus estrus dan fase estrus pada penelitian tersebut lebih panjang dibandingkan dengan penelitian ini.

Siklus estrus adalah proses berulang yang menggambarkan perubahan kadar hormon reproduksi yang disebabkan oleh ovarium aktivitas di bawah pengaruh hormon hipofisis (Aritonang *et al.* 2017).

Siklus dikendalikan oleh *Luteinizing Hormone* (LH), Folicle estrus, produksi Folicle stimulating hormone (FSH) dan LH yang saling bekerja sama dalam mengendalikan estrus, dimana produksi FSH ditekan dan LH meningkatkan sehingga terjadi pematangan folikel-folikel menjadi Folikel de Graaf. Folikel de Graaf yang matang akan menghasilkan hormone estrogen yang berperan dalam timbulnya gejala estrus.

Setiap perlakuan memiliki panjang siklus estrus berbeda-beda dan hal ini berkaitan dengan panjangnya fase estrus. Perpanjangan siklus estrus bermanfaat karena memberikan efek penting pada reproduksi karena dapat mengurangi jumlah siklus kumulatif dan sangat potensial dalam hal fertilitas (Maheswari *et al.* 2016). Dengan memperpanjang waktu birahi pada betina sehingga waktu kawin akan panjang.

Rumput kebar teridentifikasi mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan steroid. Senyawa-senyawa yang teridentifikasi dalam rumput kebar memiliki tingkat kepolaran yang berbeda, sehingga untuk menarik senyawa tersebut membutuhkan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda pula. Sulaiman *et al.*, (2011) dan Ngo *et al.* (2017) menyatakan bahwa salah satu faktor penting yang mempengaruhi efisiensi senyawa bioaktif dari tanaman adalah metode ekstraksi dan pelarutnya.

Secara keseluruhan FERK dinyatakan memiliki efek yang paling baik diantara sediaan rumput kebar lainnya. Hal ini diduga disebabkan karena FERK kemungkinan dapat menarik lebih banyak senyawa aktif yang berperan dalam efek estrogenik. Selain itu rumput kebar juga memiliki aktivitas antioksidan yang baik setara dengan vitamin C dan vitamin E (aminudin *et al.* 2020).

Pemberian fitoestrogen dengan dosis yang tepat diharapkan dapat memberikan efek yang menguntungkan pada keseimbangan hormon dalam tubuh, terutama pada pasien menopause. Fitoestrogen dapat berperan dalam menstabilkan fungsi hormonal, dengan menghambat aktivitas estrogen berlebihan yang dapat menyebabkan kanker dan juga dapat menggantikan ketika kadar estrogen dalam tubuh rendah (Maheswari *et al.* 2016).

Rumput kebar yang dapat berperan sebagai fitoestrogen dapat memperpendek siklus estrus dan memperpanjang fase estrus. Fenomena ini diduga disebabkan oleh pemblokiran reseptor estrogen oleh fitoestrogen sehingga reseptor tidak dapat ditempati oleh estrogen. Dengan kata lain, fitoestrogen dapat bersaing dan menggantikan fungsi estrogen (Mostrom & Evans 2018). Untuk memperkuat dugaan, penelitian



efek estrogenik rumput kebar masih memerlukan uji lanjut terutama terkait pengaruh terhadap hormon estrogen dan juga histologi ovarium.

SIMPULAN

Pemberian ERK dan FERK memiliki efek estrogenik dengan memperpendek siklus estrus menjadi memperpanjang fase estrus. Siklus estrus terpendek dan fase estrus terpanjang diperoleh setelah pemberian FERK selama 7 hari perlakuan, dengan potensi sebanding dengan kontrol positif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada LPPM Universitas Pakuan yang telah mendanai penelitian ini pada Tahun 2021.

DAFTAR PUSTAKA

- [DepKes RI] Departemen Kesehatan RI. 2000. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Aminudin, Andarwulan N, Palupi NS, Arifiantini I. 2020. Characteristics and Antioxidant Activity of Kebar Grass (*Biophytum petersianum*) Extract. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*. 12. 178-185.
- Aritonang, T. R., Rahayu, S., Sirait, L. I., Br Karo, M., Simanjuntak, T. P., Natzir, R., Sinrang, A. W., Massi, M. N., Hatta, M. and Kamelia, E. 2017. The Role of FSH, LH, Estradiol, and Progesterone Hormone on Estrus Cycle of Female Rats. *IJSBAR*; 35:1: 92100.
- Byers SL, Wiles MV, Dunn SL, Taft RA. 2012. Mouse estrous cycle identification tool and images. *PLoS One*.;7(4).
- Claudia N. 2018. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol 70% Rumput Kebar (*Biophytum petersianum*) Sebagai Estrogenik Pada Tikus Putih. [Skripsi]. Bogor (ID): Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan.
- Desmawati D, Sulastri D. 2019. Phytoestrogens and Their Health Effect. *J Med Sci*. 14;7(3):495-499. doi:

10.3889/oamjms.2019.044. PMID: 30834024; PMCID: PMC6390141.

- Goldman, J. M., Murr, A. S., Cooper, R. L. 2007. The rodent estrous cycle: Characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Res B* 80, 84–97.
- Hanani, E. 2015. Analisis Fitokimia. Jakarta (ID): EGC.
- Maheshwari H, Satyaningtjas AS, Harlina E, Cahyaningsih U, Effendi M, Mustofa MA, Bekalani YK. 2016. The Role of Fennel Infusion on Estrous Cycle and Follicles Development of White Rats. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 14(1): 19-25.
- Mostrom M, Evans TJ .2018. Phytoestrogens, in: Veterinary toxicology: basic and clinical principles: Third Edition. Kentucky (USA) :Elsevier, pp. 817–833. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00060-X>
- Ngo, T. V., Scarlett, C. J., Bowyer, M. C., Ngo, P. D., & Vuong, Q. V. 2017. Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of *Salacia chinensis* L. *Journal of Food Quality*, 1(11), 1-8.
- Sambodo, P., Thethool, A.N. dan Rumetor, S.D. 2015. Efek antikolesterol fraksi n-Heksana rumput Kebar pada hewan model hiperlipidemia. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 9 (1): 59-60
- Sulaiman, S. F., Sajak, A. A. B., Ooi, K. L., Supriatno, & Seow, E. M. 2011. Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw Vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 506–515.
- Suparni IE & Astutik RY. 2016. Menopause Masalah dan Penangannya. Yogyakarta: Deepublish: 79.
- Turner JV, Agatonovic-Kustrin S, Glass BD. 2007. Molecular aspects of phytoestrogen selective binding at estrogen receptors. *J PharmSci*. 96(8):1879–85.
- Whitten MK. 1957 Effect of exoceptive factorson the oestrous cycle of mice. *Nature*. 180, 1436. (doi:10.1038/1801436a0)

