

REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN SEDERHANA

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten Sederhana kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
Jalan Gajayana No. 50, Dinoyo,
Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang,
Malang, 65144,
INDONESIA

Untuk InvenSI dengan Judul : SEDIAAN HERBAL BERBAHAN DASAR EKSTRAK AIR DAUN KATUK (SAUROPS ANDROGYNUS (L)) UNTUK MENGAJASI VAGINA KERING PADA WANITA PREMENOPAUSE

Inventor : Retno Susilowati

Tanggal Penerimaan : 29 September 2017

Nomor Paten : IDS000003956

Tanggal Pemberian : 28 Juni 2021

Perlindungan Paten Sederhana untuk invenSI tersebut diberikan untuk selama 10 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 23 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten Sederhana ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invenSI yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. Menteri Hukum Dan Hak Asasi Manusia
Direktur Jenderal Kekayaan Intelektual
u.b.

Direktur Paten, Desain Tata Letak
Sirkuit Terpadu dan Rahasia Dagang

Dra. Dede Mia Yusanti, MLS.
NIP. 196407051992032001

Dipindai dengan CamS

(12) PATEN INDONESIA

(11) IDS000003956 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 28 Juni 2021

51) Klasifikasi IPC⁸ : A 61K 36/18, A 61K 36/00

71) No. Permohonan Paten : SID201706657

2) Tanggal Penerimaan: 29 September 2017

3) Data Prioritas :

(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara

4) Tanggal Pengumuman: 16 Februari 2018

Dokumen Pembanding:

Exma Mu'tatal Hikmah, Pengaruh Ekstrak Air Daun Katuk (Sauporus Androgynus (L.) Merr.) Terhadap Berat Uterus dan Tebal Endometrium Mencit (Mus Musculus L.) Premenopause, Skripsi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, 2014

Afriani, S. W., Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Katuk (Sauporus androgynus) Terhadap Berat Uterus dan Tebal Endometrium Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Menopause, Skripsi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, 2015

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG
Jalan Gajayana No. 50, Dinoyo,
Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang,
Malang, 65144,
INDONESIA

(72) Nama Inventor :
Retno Susilowati, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :
Sofyan Arief
0644-2012
Sentra Hak Kekayaan Intelektual
Universitas Muhammadiyah Malang
Jl. Raya Tlogomas No. 246,
Malang Jawa Timur 65144
INDONESIA

Pemeriksa Paten : Nani Nur'aeny, S.Si.

Jumlah Klaim : 3

5) Judul Invensi : SEDIAAN HERBAL BERBAHAN DASAR EKSTRAK AIR DAUN KATUK (SAUROPSUS ANDROGYNUS (L)) UNTUK
MENGATASI VAGINA KERING PADA WANITA PREMENOPAUSE

6) Ekstrak :

7) Invensi ini berkaitan dengan sediaan farmasi herbal berbahan dasar ekstrak air daun katuk, pembuatannya, penggunaannya, dan terapi vagina kering terkait menopause. Pembuatan ekstrak air daun katuk dalam invensi ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut air, penguapan pelarut dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator* dilanjutkan pengeringan dengan metode menggunakan *Freeze drayer* sehingga diperoleh ekstrak air daun katuk dalam bentuk kering. Adapun sediaan herbal yang dibuat ini menggunakan ekstrak air daun katuk sebesar 75-100 mg. Sediaan dapat dibuat dengan mengisikan ekstrak air daun katuk sebanyak 75-100 mg tanpa ataupun dengan menambahkan bahan eksipien dengan jenis dan jumlah yang sesuai hingga dalam sediaan mengandung ekstrak air daun katuk sebanyak 75-100 mg sesuai dengan jenis sediaan. Untuk mendapatkan efeksi mengatasi vagina kering wanita premenopause, sediaan herbal dikonsumsi 2 kali sehari 1 sediaan.



(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 28 Juni 2021

- (51) Klasifikasi IPC⁸ : A 61K 36/18, A 61K 36/00
- (21) No. Permohonan Paten : SID201706657
- (22) Tanggal Penerimaan: 29 September 2017
- (30) Data Prioritas :
(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara
- (43) Tanggal Pengumuman: 16 Februari 2018
- (56) Dokumen Pembanding:
Exma Mu'tatal Hikmah, Pengaruh Ekstrak Air Daun Katuk (Sauporus Androgynus (L.) Merr.) Terhadap Berat Uterus dan Tebal Endometrium Mencit (Mus Musculus L.) Premenopause, Skripsi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, 2014
Afriani, S. W., Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Katuk (Sauporus androgynus) Terhadap Berat Uterus dan Tebal Endometrium Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Menopause, Skripsi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, 2015

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG
Jalan Gajayana No. 50, Dinoyo,
Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang,
Malang, 65144,
INDONESIA

(72) Nama Inventor :
Retno Susilowati, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :
Sofyan Arief
0644-2012
Sentra Hak Kekayaan Intelektual
Universitas Muhammadiyah Malang
Jl. Raya Tlogomas No. 246,
Malang Jawa Timur 65144
INDONESIA

Pemeriksa Paten : Nani Nur'aeny, S.Si.

Jumlah Klaim : 3

(54) Judul Invensi : SEDIAAN HERBAL BERBAHAN DASAR EKSTRAK AIR DAUN KATUK (SAUROPSUS ANDROGYNUS (L)) UNTUK
MENGATASI VAGINA KERING PADA WANITA PREMENOPAUSE

(57) Abstrak :

Invensi ini berkaitan dengan sediaan farmasi herbal berbahan dasar ekstrak air daun katuk, pembuatannya, penggunaannya, dan dosis terapi vagina kering terkait menopause. Pembuatan ekstrak air daun katuk dalam invenisi ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut air, penguapan pelarut dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator* dilanjutkan pengeringan dengan metode sublimasi menggunakan *Freeze drayer* sehingga diperoleh ekstrak air daun katuk dalam bentuk kering. Adapun sediaan herbal yang dibuat mengandung ekstrak air daun katuk sebesar 75-100 mg. Sediaan dapat dibuat dengan mengisikan ekstrak air daun katuk sebanyak 75-100 mg tanpa ataupun dengan menambahkan bahan eksipien dengan jenis dan jumlah yang sesuai hingga dalam setiap sediaan mengandung ekstrak air daun katuk sebanyak 75-100 mg sesuai dengan jenis sediaan. Untuk mendapatkan efeksi mengatasi vagina kering wanita premenopause, sediaan herbal dikonsumsi 2 kali sehari 1 sediaan.

Deskripsi

SEDIAAN HERBAL BERBAHAN DASAR EKSTRAK AIR DAUN KATUK (SAUROPUIS ANDROGYNUS (L)) UNTUK MENGATASI VAGINA KERING PADA WANITA PREMENOPAUSE

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berkaitan dengan sediaan farmasi herbal dan cara pembuatan ekstrak air berbahan dasar daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.)). (selanjutnya dalam dokumen ini disebut *S. Androgynus*) yang digunakan untuk meningkatkan efek estrogenik di lapisan epitel vagina, meningkatkan proliferasi dan ketebalan lapisan epitel vagina, meningkatkan lapisan sel superfisial epitel vagina, meningkatkan indeks maturasi lapisan epitel vagina dan mengatasi vagina kering pada wanita premenopause.

Latar Belakang Invensi

Menopause adalah kondisi berhentinya menstruasi. Menopause umumnya dialami oleh wanita usia ≥ 50 tahun. Wanita dikatakan menopause apabila sudah tidak menstruasi selama 12 bulan berturut. Fase menopause diawali dengan terjadinya fase premenopause.

Rata-rata fase premenopause terjadi selama 4 tahun, umumnya terjadi sejak usia 40-46 tahun (Department of Health and Human Services, 2001). Wanita yang berumur 40 tahun umumnya mulai 25 mengalami premenopause dengan ditandai penurunan kadar estrogen yang kemudian diikuti perubahan struktur dan penurunan fungsi organ reproduksi khususnya ovarium, uterus dan vagina. Wanita memasuki fase premenopause ditandai oleh berubahnya panjang siklus menstruasi yang cenderung memanjang. Fase premenopause ini umumnya berlanjut menjadi postmenopause jika tidak ada terapi yang diberikan. Pada fase ini mulai tampak keluhan siklus menstruasi yang tidak teratur, muncul gejala yang berhubungan dengan menopause seperti *hot flush* dan vagina kering sehingga menimbulkan rasa sakit saat melakukan hubungan intim.



Secara struktur, epitel vagina wanita premenopause menjadi pucat dan tipis karena mengalami aptropi (Sawitri, Fauzi, dan Widyan, 2009; Amran, 2010). Vagina yang mengalami atropi rentan terhadap infeksi dan proses inflamasi jaringan submukosa.

5 Penipisan epitel vagina menyebabkan elastisitas vagina berkurang (Proverawati, 2010), vagina terasa panas, gatal, kering karena lubrikasi berkurang (Amran, 2010; Prawirohardjo, 2003). Selain itu warna vagina wanita premenopause akan mengalami perubahan tingkat keasaman, pH vagina menjadi basa (Nuryanto, 2006; Amran, 10 2010). Selain perubahan secara struktur, wanita premenopause juga akan mengalami penurunan libido (Amran, 2010).

Pada prinsipnya, invensi ini berkerja secara langsung maupun tidak langsung dalam mengatasi vagina kering. Secara langsung, kandungan fitoestrogen dalam ekstrak air daun katuk berinteraksi dengan reseptor estrogen di epitel vagina sehingga meningkatkan proliferasi sel serta sekresi epitel vagina sehingga lubrikasi vagina meningkat. Secara tidak langsung kandungan fitoestrogen dalam ekstrak air daun katuk berinteraksi dengan reseptor estrogen di folikel ovarium sehingga terjadi 15 folikulogenesis, oosit primer berkembang menjadi ovum. Sel folikel di setiap ovum yang sedang berkembang merupakan produsen esterogen. Pada tahap berikutnya estrogen endogen yang dihasilkan akan memacu sel epitel vagina berproliferasi sehingga jaringan epitel vagina menjadi lebih tebal dan meningkatkan 20 sekresi sel kenjar vagina sehingga vagina berkurang tingkat kekeringannya.

Pengamatan pada hewan coba, peningkatan proliferasi dapat diukur dengan ketebalan dan indeks maturasi (IM) sel yang ada di epitel vagina. Dimana, IM merupakan metode pengukuran secara 30 kualitatif terhadap respon estrogen (Amran, 2010). Sedangkan perubahan panjang siklus menstruasi wanita identik dengan bertambah panjangnya fase diestrus mencit betina.

Proses folikulogenesis dan ovulasi secara struktur pada manusia maupun hewan mamalia akan mengalami penebalan dinding 35 uterus dan secara klinis menyebabkan terjadinya menstruasi



Dengan demikian siklus mentruasi berjalan normal kembali karena gagal memasuki menopause. Pada mencit ataupun hewan coba mamalia penggerat lain seperti tikus tidak mengalami menstruasi. Peluruhan dinding endometrium uterus mencit diikuti absorpsi lapisan endometrium sehingga tidak disertai pengeluaran darah atau menstruasi tetapi mengalami estrus.

Efek estrogenik bahan mirip estrogen ataupun estrogen endogen juga akan mempengaruhi perkembangan lapisan epitel vagina sehingga kondisi lapisan dan jenis sel epitel vagina berkorelasi dengan kondisi perkembangan reproduksi mencit betina. Kondisi fisiologi reproduksi mencit dan hewan coba mamalia penggerat lainnya dapat dibedakan menjadi 4 fase yang terjadi secara berulang menjadi suatu siklus estrus. Siklus estrus pada mencit yaitu:

- 15 1. Fase proestrus (fase folikular awal), lama fase ini adalah 12 jam, ditandai dengan sedikit sel leukosit dan banyaknya sel epitel berinti.
2. Fase estrus (fase folikular hingga ovulasi), lama fase ini adalah 12 jam, ditandai dengan banyaknya sel kornifikasi.
- 20 3. Fase metestrus (fase luteal awal), lama fase ini adalah 12 jam, ditandai dengan adanya sel kornifikasi serta sedikit sel leukosit dan sel epitel berinti.
4. Fase diestrus (fase luteal akhir), lama fase ini adalah 72 jam, ditandai dengan banyaknya sel leukosit dan sedikit sel epitel berinti (jika ada).

Invensi ini menggunakan daun tanaman katuk (*S. androgynus* (L). Merr. Tanaman ini merupakan tanaman yang dikenal sebagai pelancar ASI bagi wanita yang menyusui (Aspan, 2008). Tanaman *S. androgynus*, L) mengandung senyawa aktif Androstan-17-on,3-etil-3-hidroksi-5-alfa yang berfungsi sebagai prekursor atau *intermediate-step* dalam sintesis senyawa hormon-hormon steroid (progesteron, estrogen, testosteron, dan glukokortikoid). Selain itu, *S. androgynus* juga mengandung berbagai senyawa lain seperti isoflavon (menurut Suprayogi (2000) dalam Sari dan Yuniarti



2004). Isoflavon merupakan salah satu senyawa fitoestrogen (Baziad, 2003).

Terkait dengan invensi ini berfungsi untuk menekan, menahan, menghambat munculnya gangguan atau gejala fisik 5 premenopause terutama vagina kering. Dalam invensi ini upaya mengurangi vagina kering dilakukan menggunakan ekstrak air daun *S. androgynus* sebagai bahan dasar maka dilakukan penelusuran paten yang relevan dengan invensi ini.

Penelusuran menggunakan kata kunci *S. androgynus* ditemukan 10 65 paten, pelacakan lebih lanjut diketahui bahwa tidak satupun terkait dengan vagina, ataupun terkait dengan gejala vagina kering, ataupun yang terkait dengan itu. Penelusuran hanya dengan kata kunci tersebut tidak ditemukan padannya maka tidaklah mungkin ditemukan yang lain dengan kata kunci yang 15 lebih rinci.

Penelusuran terkait dengan publikasi ilmiah dengan kata kunci *Sauropus androgynus*, menopause, ditemukan publikasi ilmiah yaitu laporan Wulandari, Afriani Susilo (2015) dengan judul Pengaruh pemberian ekstrak daun *S. androgynus* terhadap berat 20 uterus dan tebal endometrum pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) menopause. Perbedaan dengan invensi ini adalah pada penggunaannya yaitu invensi ini ditujukan untuk premenopause sedangkan Wulandari, Afriani Susilo (2015) melaporkan hasil penelitiannya pada tikus postmenopause. Selain itu adanya 25 perbedaan parameter pengamatan yang berbeda yaitu pengamatan uterus yang diamati pada fase post menopause sedangkan pengujian invensi ini dilakukan terhadap *R. norvegicus* yang diinduksi fase premenopause dengan parameter panjang silkus diestrus, tebal epitel vagina dan indeks maturasi. Wulandari, Afriani 30 Susilo (2015) melaporkan hasil negatif penelitiannya, invensi ini memanfaatkan hasil positif dari perlakuan ekstrak *S. androgynous*.

Penelitian lainnya ditemukan dalam laporan Exma Mu'tatal Hikmah, dengan judul: Pengaruh Ekstrak Air Daun Katuk (*Sauropus 35 Androgynus* (L.) Merr.) Terhadap Berat Uterus dan Tebal

Endometrium Mencit (*Mus musculus* L.) Premenopause, 2014. Tulisan ini melaporkan pengaruh ekstrak air daun katuk terhadap berat uterus dan tebal endometrium mencit premenopause dimana dosis efektif ekstrak adalah 15 dan 30 mg/kgbb. Penelitian tersebut 5 tidak menjelaskan sediaan farmasi. Invensi saat ini merupakan pengembangan produk dari teknologi sebelumnya yang dijelaskan oleh Exma Mu'tatal Hikmah yaitu menyediakan sediaan farmasi herbal yang mengandung 75-100 mg ekstrak air daun katuk (*Sauvopus androgynus* (L.). Merr) untuk mengatasi vagina kering 10 wanita premenopause.

Uraian Singkat Invensi

Invensi ini berhubungan dengan sediaan farmasi herbal yang digunakan untuk meningkatkan efek estrogenik di lapisan epitel 15 vagina, meningkatkan proliferasi dan ketebalan lapisan epitel vagina, meningkatkan lapisan sel superfisial epitel vagina, meningkatkan indeks maturasi lapisan epitel vagina dan mengatasi vagina kering pada wanita premenopause.

Aspek lain dari invensi ini adalah pembuatan sediaan 20 farmasi herbal berbahan dasar ekstrak air daun katuk. Pembuatan sediaan ekstrak air daun *S. androgynus* dilakukan melalui tahapan-tahapan yaitu :

- 1) Serbuk simplisia daun katuk dipanaskan dalam air rasio 1:2 (b/v) menggunakan *water bath* suhu 70°C selama 2 jam.
- 25 2) Air rebusan kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman no 42 sehingga dihasilkan filtrat 1a dan residu.
- 3) Residu dimaserasi kembali menggunakan aquades selama 6 jam di atas *shaker* dengan kecepatan 250 rpm. Maserat disaring menggunakan kertas Whatman no 42 sehingga dihasilkan filtrat 30 1b.
- 4) Filtrat disatukan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.
- 5) Ekstrak kental dikeringkan dengan metode sublimasi menggunakan *Freeze dry*.

Dosis pelakuan pemberian ekstrak air daun katuk (EDK) selama 30 hari diatur sebagai berikut: K(-)= Normal, P(0)= VCD tanpa terapi, premenopause, P(1)= VCD + EDK 15 mg/kgBB, P(2)= VCD + EDK 30 mg/kgB.

5

Uraian Singkat Gambar

Gambar 1 menjelaskan perbedaan panjang fase diestrus mencit betina premenopause sebelum dan sesudah pemberian perlakuan ekstrak air daun katuk.

10 Gambar 2 menjelaskan apusan vagina yang memperlihatkan fase-fase dalam siklus estrus (1= leukosit, 2= sel kornifikasi, 3= sel epitel berinti, perbesaran 100x).

15 Gambar 3 menjelaskan tebal epitel vagina mencit (*Mus musculus L.*) premenopause setelah pemberian perlakuan ekstrak air daun katuk.

Gambar 4 menjelaskan histologi epitel vagina mencit betina premenopause (1= lumen, 2= sel superfisial, 3= sel intermediat, 4= sel parabasal, perbesaran 400x).

20 Dosis pemberian EDK kepada manusia untuk penghambatan vagina kering diinterpolasi menggunakan tabel konversi dosis dari mencit dengan berat badan 20 g hasil penelitian sebesar 15-30 mg/kgbb/hari atau 0,3375-0,675 mg/ekor/hari dikonversi ke manusia dengan berat badan 70 kg dengan faktor konversi adalah sebesar 387,9 (Laurence, 2008). Herbal Terapi mengatasi 25 vagina kering pada premenopause berbasis ekstrak air daun katuk (*S. androgynous*) ini pada manusia adalah 130,0 - 260,0 mg/hari. Sediaan herbal yang dibuat mengandung EDK sebanyak 75-100 mg dengan konsumsi 2x sehari.

30 **Uraian Lengkap Invensi**

Invensi ini berkaitan dengan sediaan farmasi herbal berbahan ekstrak air daun katuk, pembuatannya, penggunaannya, dan dosis terapi menekan/menghambat gejala ikutan menopause pada fase premenopause, menggunakan ekstrak air daun katuk.



Pembuatan sediaan ekstrak air daun katuk (*S. androgynus* (L.) Merr) dilakukan melalui tahapan-tahapan yaitu :

- 1) Serbuk simplisia daun katuk dipanaskan dalam air aquades rasio 1:2 (b/v) menggunakan water bath suhu 70°C selama 2 jam.
- 5 2) Air rebusan kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman no 42 sehingga dihasilkan filtrat 1a dan residu.
- 10 3) Residu dimaserasi kembali menggunakan aquades selama 6 jam di atas shaker dengan kecepatan 250 rpm. Maserat disaring menggunakan kertas Whatman no 42 sehingga dihasilkan filtrat 1b.
- 15 4) Filtrat disatukan kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental.
- 5) Ekstrak kental dikeringkan menggunakan metode sublimasi menggunakan Freeze dryer.

Pengujian terhadap invensi ini menggunakan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Adapun pembagian kelompok perlakuan dilakukan sebagai berikut: K(-) = Normal, P(0)= VCD, tanpa terapi, menopause, 20 P(1)=VCD + EDK 15 mg/kgBB dan P(2)= VCD + EDK 30 mg/kgB.

Pengujian terhadap invensi dilakukan menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus* L.) betina strain Balb/C usia 2 bulan 1 minggu dan berat sekitar 21-25 gram, yang dikondisikan seragam sebagai model penderita premenopause. Induksi mencit 25 premenopause dilakukan dengan merusak folike melalui induksi apoptosis 90-99% dari folikel primer dan primordial yang dilakukan dengan cara pemberian VCD (4-Vinil Sikloheksena dioksida) dosis 160 mg/kgBB sebanyak 5 kali selama 14 hari (Muhammad, et al, 2009; Kempen, 2011). Untuk mencit kontrol 30 negatif dilakukan penyerentakan birahi menggunakan hormon prostaglandin sebanyak 0,5 mg yang diinjeksikan secara intramuscular sebanyak 0,1 ml (Nadhifah, 2010). Variabel terikatnya meliputi panjang fase diestrus mencit (*Mus musculus* L.) betina premenopause, proliferasi epitel dinding vagina dan

panjang fase diestrus mencit (*Mus musculus* L.) betina premenopause.

Fase premenopause ditunjukkan oleh adanya peningkatan lama fase diestrus yang diamati melalui apusan vagina. Apusan vagina 5 diambil dengan sedikit larutan NaCl 0,9% dengan pipet. Larutan NaCl di dalam pipet dimasukkan kedalam vagina mencit dan langsung dihisap kembali dengan cepat (Sitaswi, 2009). Apusan vagina yang sudah diambil diletakkan di object glass lalu diwarnai dengan pewarna GIEMSA 10% dalam buffer (Nadhifah, 2010). 10 Pewarnaan dilakukan selama 30 menit, lalu di bilas dengan air mengalir dan ditunggu hingga kering. Pengamatan apusan vagina diamati dibawah mikroskop dengan mikroskop komputer binokuler CX Olympus CX31 perbesaran 100x. Penentuan fase pada siklus estrus dengan melihat perbandingan sel epitel berinti, sel epitel 15 menanduk (kornifikasi), dan leukosit pada hasil apusan vagina (Sitaswi, 2009). Kerusakan pada ovarium yang diakibatkan oleh VCD ditunjukkan dengan siklus estrus yang memanjang dengan panjang fase diestrus yang melebihi fase normal (lebih dari 120 jam) dan terus-menerus (Craig et al., 2010). Adapun hasil 20 pengamatan panjang fase diestrus seperti diagram pada Gambar 1 dan Tabel 1.

Diagram pada Gambar 1, tersebut, menunjukkan bahwa terdapat peningkatan rata-rata panjang fase diestrus sebelum perlakuan dan pada kelompok kontrol menopause P(0). 25 Hasil uji lanjut menggunakan BNT 1% (Tabel 1) menunjukkan adanya perbedaan panjang siklus estrus antara mencit yang diinduksi VCD berbeda sangat nyata dengan panjang siklus diestrus mencit normal tanpa VCD. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan pemberian VCD sebelum perlakuan telah merubah kondisi reproduksi mencit 30 sehingga memiliki fase diestrus yang lebih panjang. Hal ini juga berarti pemberian VCD telah berhasil membuat hewan coba mencit memasuki fase premenopause, sehingga siap diberi perlakuan terapi dengan parameter panjang siklus untuk mengetahui efek penghambatan premenopause.



Hasil menunjukkan bahwa sesudah pemberian ekstrak air daun katuk, rata-rata panjang fase diestrus mengalami penurunan pada kelompok P(1) dan P(2). Pengamatan apusan vagina pada kelompok P(1) dan P(2) terdapat fase selain fase diestrus yaitu fase proestrus, fase estrus, dan fase metestrus. Hasil pengamatan panjang fase diestrus pada apusan mencit betina premenopause dalam 4 fase tersebut seperti pada Gambar 2.

10 Tabel 1. Ringkasan BNT 1% tebal Panjang Fase Diestrus dan Tebal Epitel Vagina Mencit Betina Premenopause Sesudah Perlakuan Ekstrak Air Daun Katuk (*S. androgynous*)

Perlakuan	Rataan Panjang Fase Diestrus (jam)		Rataan tebal epitel vagina (µm)
	Sebelum Perlakuan	Sesudah Perlakuan	
P(0)	134,4 ± 8,76 ^b	140,8 ± 4,38 ^b	9,85 ± 1,84 ^b
P(1)	134,4 ± 13,14 ^b	91,2 ± 12,13 ^a	8,85 ± 1,32 ^a
P(2)	125,6 ± 10,43 ^b	78,4 ± 6,69 ^a	10,90 ± 1,52 ^c
K(-)	110,4 ± 8,76 ^a	80,0 ± 8,0 ^a	15,75 ± 0,80 ^d

15 Keterangan: huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menyatakan adanya perbedaan sangat nyata ($p<0,01$) antar kelompok perlakuan.

Berdasarkan uji normalitas dengan Kolmogorov Smirnov serta uji homogenitas Lavene dari data panjang fase diestrus yang didapatkan menunjukkan bahwa data panjang fase diestrus mencit premenopause berdistribusi normal dan memiliki varian homogen ($p>0,05$). Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa pemberian EDK berpengaruh terhadap panjang siklus estrus ($p<0,01$) dan hasil uji BNT menunjukkan pemberian EDK memperpendek siklus estrus secara sangat signifikan ($p<0,01$) hingga kembali normal.

25 Pemberian invensi ini selain menurunkan panjang fase diestrus juga mempengaruhi proliferasi epitel vagina mencit betina premenopause. Penurunan kandungan hormon estrogen yang

menurun menyebabkan proliferasi sel-sel epitel vagina terganggu (Yatim, 1994; Nursyah, 2012). Terjadinya proliferasi epitel vagina mencit betina premenopause dapat dilihat dari ketebalan dan indeks maturasi sel epitel vagina. Ketebalan epitel vagina mencit betina premenopause setelah pemberian invensi ini dapat dilihat pada Gambar 3.

Berdasarkan uji normalitas dengan Kolmogorov Smirnov serta uji homogenitas Lavene menunjukkan bahwa data tebal epitel vagina mencit premenopause berdistribusi normal dan memiliki varian homogen ($p>0,05$). Hasil analisis One Way ANOVA menunjukkan bahwa ada pengaruh yang sangat nyata dari pemberian invensi ini terhadap tebal epitel vagina ($p<0,01$). Berdasarkan hasil uji BNT 1% menunjukkan bahwa pemberian EDK mampu meningkatkan tebal epitel vagina seiring dengan meningkatnya dosis, meskipun pada interfensi selama 30 hari belum mampu menormalkan tebal epitel vagina (Tabel 1).

Peningkatan ketebalan epitel vagina disebabkan karena terjadi proliferasi dan ketebalannya tergantung indeks maturasi vagina yang sangat ditentukan oleh kadar hormon estrogen atau seyawa estrogenik yang ada di dalam tubuh. Berdasarkan uji BNT 1% pada Tabel 2, dapat diketahui bahwa indeks maturasi sel epitel vagina kelompok mencit betina premenopause tanpa perlakuan yaitu kelompok P(0) mempunyai IM paling rendah yaitu 44,5. Hal ini menunjukkan efek estrogen terhadap epitel vagina mencit rendah karena hormon estrogen yang menurun setelah pemberian VCD. Kelompok P(1) mempunyai IM 63,5 sedangkan kelompok K(-) mempunyai IM 58,5. Kelompok P(1) dengan dosis invensi ini 15 mg/kgBB mengalami sedikit peningkatan indeks maturasi. Indeks maturasi kelompok P(1) menunjukkan efek estrogen terhadap epitel vagina mencit sedang sama dengan kelompok K(-). Dosis 15 mg/kgBB memperbaiki sedikit proliferasi epitel vagina mencit betina premenopause. Indeks maturasi tertinggi pada kelompok P(2) dengan IM 75 (Gambar 3). Hal ini menunjukkan efek estrogen terhadap epitel vagina mencit tinggi. Hal ini terjadi karena peningkatan hormon estrogen setelah

pemberian invensi ini. Hal ini menunjukkan bahwa estrogen pada mencit kelompok P(2) dengan dosis invensi ini 30 mg/kgBB berefek tinggi terhadap proliferasi dan maturasi epitel vagina. Dosis yang optimal untuk meningkatkan efek estrogenik terhadap 5 proliferasi dan indeks maturasi epitel vagina adalah dosis 30 mg/kgBB.

Berdasarkan Tabel 2, diketahui bahwa persentase sel parabasal paling banyak terdapat pada kelompok P(0) yaitu 41,84%. Hal ini menunjukkan pada kelompok P(0) yang diinjeksi 10 VCD tidak terjadi proses diferensiasi sel epitel vagina. Sedangkan persentase sel superfisial pada kelompok P(1) dan P(2) dengan dosis invensi ini 15 mg/kgBB dan 30 mg/kgBB secara berturut adalah 40,17% dan 41,17%. Hal ini menunjukkan bahwa proses diferensiasi sel epitel vagina pada kelompok P(1) dan 15 P(2) berjalan baik.

20 Tabel 2. Ringkasan BNT 1% Indeks Maturasi (IM) dan Distribusi Sel Epitel Vagina Mencit setelah Pemberian Invensi Ekstrak Air Daun Katuk (*S. androgynous*)

Perlakuan	Sel Parabasal (%)	Sel Intermediet (%)	Sel Superfisial (%)	Indeks maturasi epitel vagina	Efek estrogenik
P(0)	41,84	25,51	32,65	44,5 ± 2,98 ^a	rendah
P(1)	26,78	33,03	40,17	63,5 ± 2,55 ^b	sedang
P(2)	30,88	27,94	41,17	75 ± 2,21 ^c	tinggi
K(-)	38,15	24,57	37,28	58,5 ± 2,99 ^b	sedang

Keterangan: huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menyatakan adanya perbedaan nyata ($p<0,01$) antar kelompok perlakuan.

25 Ketebalan lapisan epitel vagina dan maturasi sel epitel sesuai dengan kandungan hormon estrogen. Sel superfisial yang banyak menunjukkan banyaknya kandungan hormon estrogen, sedangkan sel parabasal yang banyak menunjukkan sedikitnya hormon *JK*



estrogen dalam tubuh. Defisiensi estrogen akan mengakibatkan penurunan proliferasi epitel serta maturasi epitel menjadi sel intermediet dan sel superfisial. Hal ini terjadi karena semua lapisan hilang kecuali lapisan sel basal (Amran, 2010).

- 5 Berdasarkan gambar histologi vagina (Gambar 4), dapat diketahui ada perbedaan proliferasi dari epitel vagina pada tiap-tiap kelompok. Kelompok P0 yang hanya diinjeksi dengan VCD mempunyai ketebalan dan indeks maturasi paling rendah dibandingkan kelompok P(1) dan P(2). Kadar hormon estrogen yang 10 rendah akibat injeksi VCD menyebabkan terganggunya proses maturasi dan proliferasi epitel vagina. Pengamatan histologi menunjukkan bahwa lapisan epitel vagina kelompok P0 banyak ditemukan sel parabasal, dan sedikit sel intermediet maupun sel superfisial. Hal ini terjadi karena semua lapisan hilang kecuali 15 lapisan sel basal (Amran, 2010) dan lapisan epitel mengalami penipisan.

Daun katuk mengandung senyawa isoflavon (Suprayogi, 2000) bersifat estrogenik terhadap epitel vagina, sehingga dapat mempengaruhi proliferasi epitel vagina. Isoflavon merupakan 20 salah satu jenis fitoestrogen (Sulistyawati dan Proverawati, 2010). Sifat estrogenik dari isoflavon disebabkan oleh cincin A-C mirip cincin A-B pada estrogen dan mirip kelompok hidroksil dalam posisi 5. Letak cincin ini memainkan peran penting dalam meningkatkan aktifitas estrogen. Isoflavon bersifat estrogenik 25 dengan cara berikatan dengan reseptor estrogen (Darmadi dkk, 2011).

Mekanisme kerja fitoestrogen melalui reseptor estrogen (ER) secara langsung, sehingga mempengaruhi transkripsi gen (Sutrisno, 2010). Reseptor estrogen pada jaringan penyusun 30 organ reproduksi seperti vagina adalah reseptor α (Klein, 1998 dalam Sitasihwi, 2009). Reseptor estrogen α bersifat agonis penuh (Sutrisno, 2010; Baziad, 2003). Ikatan antara estrogen dengan reseptor estrogen di inti sel menjadi reaktif dan mempengaruhi ERE (Estrogen Responsive Element). Ikatan antara estrogen dengan 35 reseptor estrogen, dan ERE memicu memicu respon estrogenik sel



dengan memacu terjadinya transkripsi dan translasi protein target, sehingga proliferasi sel terjadi (Kusmana, dkk., 2007).

Pengamatan yang dilakukan terhadap panjang fase diestrus mencit betina premenopause, diketahui terdapat fase proestrus, 5 estrus, dan metestrus. Pada fase proestrus ini kadar estrogen mulai meningkat dan saluran mukosa vagina mulai mendapatkan peningkatan aliran darah sehingga sel-sel epitel saluran reproduksi mulai berproliferasi. Proliferasi yang terjadi pada sel-sel epitel endometrium uterus, epitel vagina, dan epitel 10 duktus kelenjar ambing terjadi secara tidak langsung dibantu oleh faktor parakrin yang dihasilkan sel stroma akibat induksi estrogen (Cooke et al., 1995). Fase estrus memiliki kadar estrogen tinggi dan suplai darah ke vagina bertambah sehingga epitel vagina mengalami kornifikasi dengan cepat. Pada fase 15 metestrus, kadar estrogen menurun dan vaskularisasi berkurang sehingga terjadi pelepasan sel epitel vagina dan leukosit (Toelihere, 1985).

Struktur isoflavon yang mirip dengan estradiol 17- β (E2) 20 menyebabkan proliferasi epitel vagina secara langsung berikatan antara dengan reseptor estrogen α (ER- α) pada epitel (Buchanan et al., 1998). Ikatan estrogen pada DNA menyebabkan ekspresi gen meningkat dan menyebabkan terjadi aktivitas proliferasi sel epitel vagina dan ketebalan epitel vagina (Buchanan et al., 1998; Puspitadewi dan Sunarno, 2007).

25 Dosis yang diterapkan pada hewan coba invensi adalah 15-30 mg/kgBB/hari, pada mencit 20 mg dosis menjadi 0,3375-0,675 mg/ekor/hari. Untuk manusia dosis sediaan Herbal untuk mengobati vagina kering wanita premenopause berbasis ekstrak air daun *S. androgynus* diinterpolasi menggunakan tabel konversi dosis dari 30 mencit dengan berat badan 20 g ke manusia dengan berat badan 70 kg memiliki faktor konversi sebesar 387,9 (Laurence, 2008). Sehingga dosis herbal terapi untuk mengobati vagina kering berbasis ekstrak air daun katuk (*S. androgynous*) ini pada manusia adalah 130,9 - 261,8 mg/hari (dibulatkan menjadi 130-260



mg/hari). Adapun sediaan herbal dapat dibuat yang mengandung ekstrak air daun katuk sebesar 75-100 mg.

Sediaan dapat dibuat dengan mengisikan EDK sebanyak 75-100 mg tanpa ataupun dengan menambahkan bahan eksipien dengan jenis dan jumlah yang sesuai hingga dalam setiap sediaan mengandung EDK didapatkan sebanyak 75-100 mg sesuai dengan jenis sediaan. Untuk mendapatkan efikasi dalam mengatasi vagina kering, sediaan herbal dikonsumsi 2 kali sehari.



✓

Klaim

1. Suatu sediaan farmasi herbal yang mengandung 75-100 mg ekstrak air daun katuk (*Sauvopus androgynus* (L.) Merr).
- 5 2. Sediaan herbal menurut klaim 1 untuk meningkatkan efek estrogenik, meningkatkan proliferasi dan ketebalan lapisan epitel vagina, meningkatkan lapisan superfisial epitel vagina, meningkatkan indeks maturasi lapisan epitel vagina dan mengatasi vagina kering pada wanita premenopause.
- 10 3. Sediaan herbal menurut klaim 1 dapat dikonsumsi dua kali dalam sehari.



Abstrak

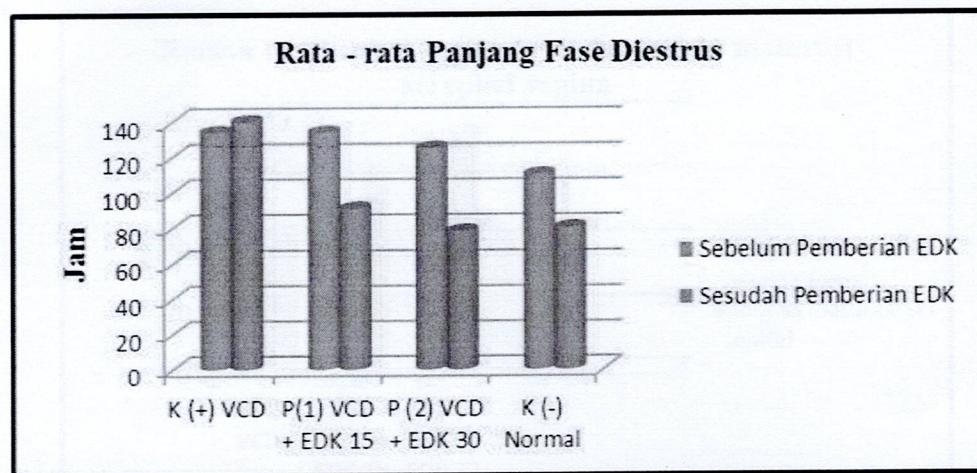
SEDIAAN HERBAL BERBAHAN DASAR EKSTRAK AIR DAUN KATUK (*SAUROPOUS ANDROGYNUS* (L)) UNTUK MENGATASI VAGINA KERING PADA WANITA PREMENOPAUSE

5

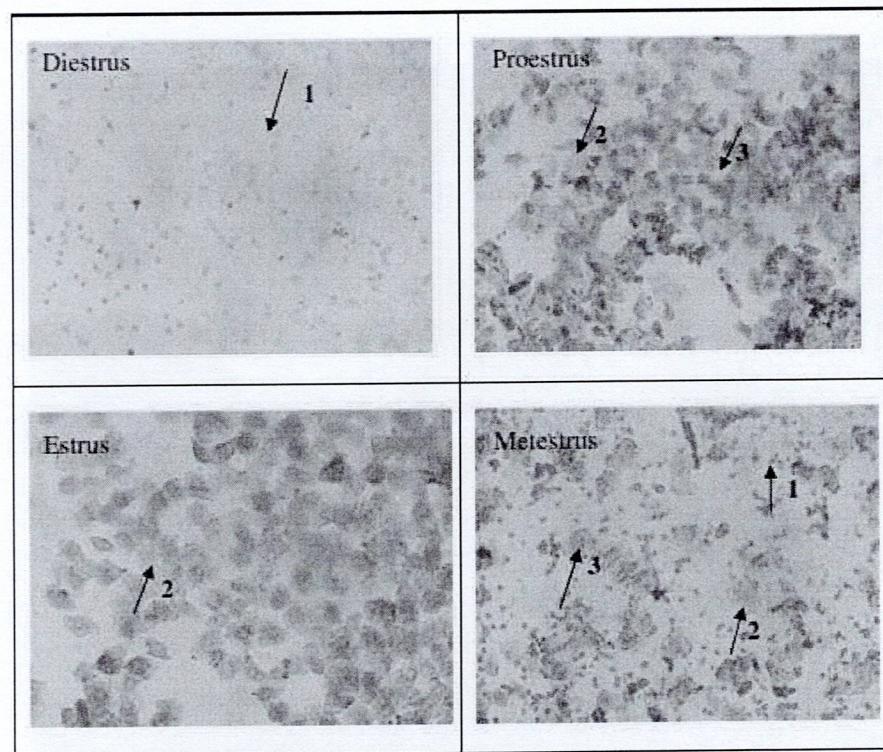
Invensi ini berkaitan dengan sediaan farmasi herbal berbahan dasar ekstrak air daun katuk, pembuatannya, penggunaannya, dan dosis terapi vagina kering terkait menopause. Pembuatan ekstrak air daun katuk dalam invensi ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut air, penguapan pelarut dilakukan dengan menggunakan rotary evaporator dilanjutkan pengeringan dengan metode sublimasi menggunakan Freeze drayer sehingga diperoleh ekstrak air daun katuk dalam bentuk kering.

Adapun sediaan herbal yang dibuat mengandung ekstrak air daun katuk sebesar 75-100 mg. Sediaan dapat dibuat dengan mengisikan ekstrak air daun katuk sebanyak 75-100 mg tanpa ataupun dengan menambahkan bahan eksipien dengan jenis dan jumlah yang sesuai hingga dalam setiap sediaan mengandung ekstrak air daun katuk sebanyak 75-100 mg sesuai dengan jenis sediaan. Untuk mendapatkan efikasi mengatasi vagina kering wanita premanopause, sediaan herbal dikonsumsi 2 kali sehari 1 sediaan.

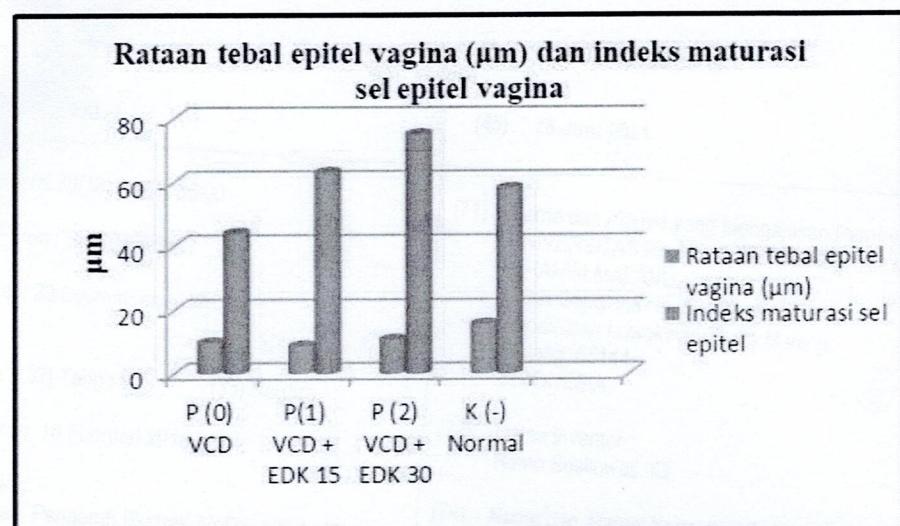




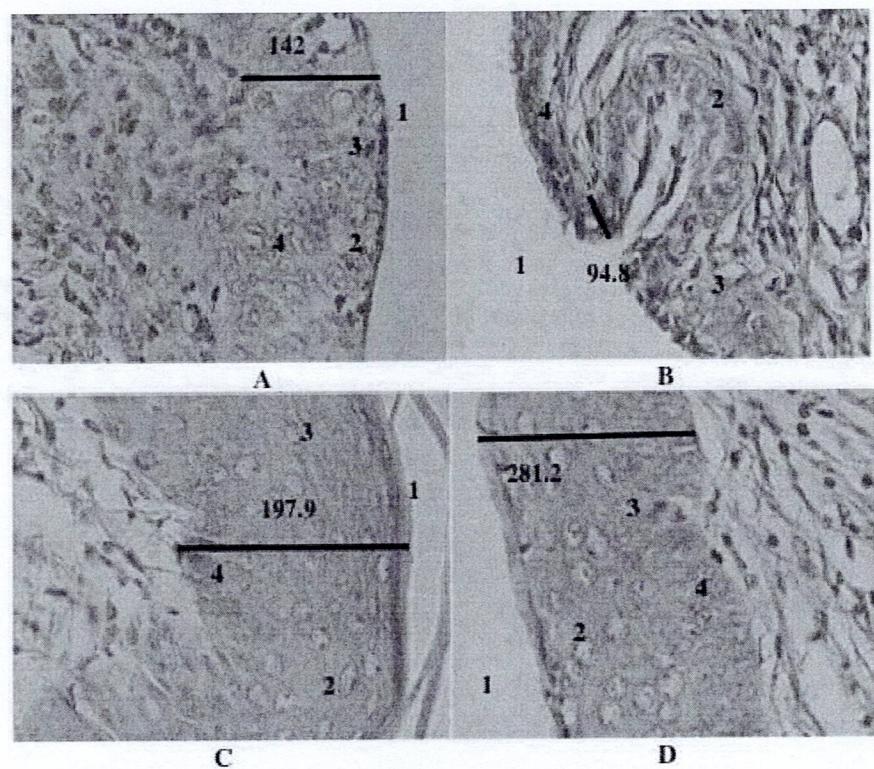
Gambar 1



Gambar 2



Gambar 3



Gambar 4