

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK GLETANG
(*Tridax procumbens*) TERHADAP JUMLAH
OSTEOBLAS DAN OSTEOKLAS PADA TULANG
FEMUR TIKUS WISTAR PASCA OVARIKTOMI**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

DEVI FITRIANI

22201101080

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM MALANG
2026**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK GLETANG
(*Tridax procumbens*) TERHADAP JUMLAH
OSTEOBLAS DAN OSTEOKLAS PADA TULANG
FEMUR TIKUS WISTAR PASCA OVARIEKTOMI**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

DEVI FITRIANI

22201101080

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM MALANG**

2026

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK GLETANG
(*Tridax procumbens*) TERHADAP JUMLAH
OSTEOBLAS DAN OSTEOKLAS PADA TULANG
FEMUR TIKUS WISTAR PASCA OVARIEKTOMI**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM MALANG
2026**



SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK GLETANG (*Tridax procumbens*) TERHADAP JUMLAH OSTEOKLAS DAN OSTEOKLAS PADA TULANG FEMUR TIKUS WISTAR PASCA OVAREKTOMI

Oleh:

DEVI FITRIANI

22201101080

Telah Dipertahankan Di Depan Penguji
Pada Tanggal 20 April 2026
Dan Dinyatakan Memenuhi Syarat

Menyetujui
Komisi Pembimbing

Ketua (Pembimbing 1)



dr. Erna Sulistyowati, M.Kes., PhD

NPP: 205.02.00004

Anggota (Pembimbing 2)



Yoyon Arif Martono, S.Si., M.Kes

NPP: 205.02.00002

Malang, 29 Mei 2026

Program Studi Kedokteran

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Dekan



dr. Rahma Trilliana, M.Kes., PhD

NPP: 205.02.00001

JUDUL SKRIPSI:

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK GLETANG (*Tridax procumbens*) TERHADAP JUMLAH OSTEOBLAS DAN OSTEOKLAS PADA TULANG FEMUR TIKUS WISTAR PASCA OVARIEKTOMI

Nama Mahasiswa : Devi Fitriani

NIM : 22201101080

Program studi : Kedokteran

Fakultas : Kedokteran

KOMISI PEMBIMBING

Ketua : dr. Erna Sulistyowati, M.Kes., PhD

Anggota pembimbing : Yoyon Arif Martino, S.Si., M.Kes

TIM DOSEN PENGUJI

Dosen Penguji I : Prof. Dr. H. Yudi Purnomo, M.Kes., Apt

Dosen Penguji II : dr. Aris Rosidah, M.Biomed., Sp.PA

Tanggal Ujian : 20 April 2026

SK Penguji : 047/A341/U.10/D/A.06/X/2025



PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah SKRIPSI ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak pernah terdapat karya atau pendapat yang pernah di tulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah SKRIPSI ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia SKRIPSI ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh SARJANA KEDOKTERAN dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan pasal 70).

Malang, 30 Mei 2026

Mahasiswa



Devi Fitriani

22201101080

Kedokteran FK UNISMA

“Tambahkanlah semangatmu dalam menuntut ilmu, bersihkanlah hati dan menyeru manusia ke jalan Allah. Tiga tujuan itu tetaplah dengan mantap, kuatkan tekad untuk berkhidmah, hingga kelak berjumpa dengan Allah insyaAllah.”

-Al Habib Umar bin Hafidz-

“Hati-hati dengan kecerdasan. Banyak pemuda hancur karena kecerdasannya yang tidak diimbangi dengan adab dan tata krama”

-KH. Nurul Huda Djazuli-

“Ilmu itu membuatmu tidak sombong, karena semakin tahu, semakin sadar kalau kamu masih bodoh. Maka belajar terus dan memperbaiki diri”

-KH. Ahmad Bahauddin Nursalim-

“Bersabarlah dalam belajar, sebagaimana bumi sabar menanti hujan. Karena pada waktunya, ia akan menumbuhkan kehidupan.”

-Devi Fitriani-

Karya ini kupersembahkan untuk:

Allah SWT

Nabi Muhammad SAW

Agama

Kedua orang tuaku, Keluargaku, Sahabatku, Almamaterku

Dan untuk semua yang membuat hidupku bermakna

RIWAYAT HIDUP

Devi Fitriani lahir di Kota Nabire Papua Tengah pada tanggal 08 Desember 2003. Terlahir sebagai putra kedua dari tiga bersaudara pasangan Bapak Ali dan Ibu Umandiyah. Devi Fitriani menjalani pendidikan TK di TK Nurul Huda Nabire, dan menjalani pendidikan Madeasah Ibtidaiyah (MI) di MI Nurul Ilmi kabupaten Nabire Papua Tengah selama 6 Tahun. Kemudian melanjutkan sekolah SMP di SMP Negeri 2 Nabire selama 3 tahun, kemudian menjalani sekolah mondok di SMA Queen Al-Falah Ploso Mojo Kediri selama 3 tahun. Kemudian menjalani perkuliahan di Universitas Islam Malang dengan program studi Kedokteran Fakultas Kedokteran pada tahun 2022.

Selama menempuh pendidikan di FK UNISMA, Devi Fitriani banyak belajar mengenai kehidupan bersosial, kedisiplinan dalam waktu, tanggung jawab dan leadership dengan mengikuti kegiatan kemahasiswaan berupa kegiatan organisasi di Lembaga Pecinta Islam dan Sains sebagai Bendahara periode 2023/2024.

Malang, 30 Mei 2026

Devi Fitriani

22201101080

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar- besarnya kepada:

1. Allah ﷻ , Tuhan Yang Maha Esa dan Maha Mulia, sumber segala kebaikan dan keagungan.
2. Rasulullah Muhammad ﷺ , suri tauladan segala manusia. Semoga sholawat dan salam senantiasa tercurah kepadanya.
3. Yth. Ibu dr. Rahma Trilliana, M.Kes, PhD selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang
4. Yth. dr. Erna Sulistyowati, M.Kes., PhD sebagai dosen pembimbing 1. Terima kasih atas ilmu, semangat, bimbingan, dan nasihat yang telah diberikan selama penyusunan Skripsi ini
5. Yth. Yoyon Arif Martino, S.Si., M.Kes sebagai dosen pembimbing 2. Terima kasih atas ilmu, semangat, bimbingan, dan nasihat yang telah diberikan selama penyusunan Skripsi ini
6. Yth. Bu Sri Herlina, SKM., MPH sebagai dosen pendamping akademik yang telah membimbing dan mendampingi selama proses menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran UNISMA
7. Yth. Prof. Dr. H. Yudi Purnomo, M.Kes., Apt dan dr. Aris Rosidah, M.Biomed., Sp.PA, M.Biomed selaku penguji atas guna penyempurnaan skripsi ini.
8. Yth. Kepada seluruh dosen dan staf pengajar di FK UNISMA yang telah mengajarkan ilmu teori dan skill tentang kedokteran selama proses menempuh pendidikan S1 Kedokteran.

9. Kepada Ustadz Ali Zainal Abidin Azmatkhan, S.Pd, M.Pd yang telah mengajarkan tentang kedisiplinan, adab, akhlak dan ilmu agama yang bermanfaat sebaga bekal untuk masa depan.
10. Kepada Guru saya KH. Nurul Huda Djazuli yang selalu memberikan doa, nasihat dan arahan agama terhadap jalan hidup saya disaat saya kebingungan dan gelisah akan kehidupan.
11. Kepada drh. Dewi Maryam, Mbak Karina, Mas Topan beserta seluruh laboran satwa sehat Indonesia yang telah membimbing serta kerja samanya dalam membantu seluruh rangkaian proses penelitian.
12. Kepada kedua orang tua saya tersayang Pak Ali, Ibu Umandiyah dan Kakak Siti Hajaroh atas doa yang selalu terucap, semangat, motivasi, dukungan moril maupun material yang selalu mendampingi saya berjuang baik dalam suka dan duka untuk meraih cita-cita
13. Kepada seluruh teman pondok Hanifah Na'afiyani terima kasih atas kerja sama, yang saling support, motivasi, menyemangati, dan menemani selama belajar di FK UNISMA
14. Juga kepada semua teman-teman, kakak tingkat FK UNISMA yang telah membantu, dan memberikan dukungan moral, sabar membimbing selama penelitian ini.

Malang, 30 Mei 2026

Devi Fitriani

RINGKASAN

Devi Fitriani, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang. Pengaruh Ekstrak Gletang (*Tridax procumbens*) Terhadap Jumlah Osteoblas dan Osteoklas pada Tulang Femur Tikus Wistar Pasca Ovariektomi. **Pembimbing 1:** Erna Sulistyowati, **Pembimbing 2:** Yoyon Arif Martino.

Pendahuluan: Menopause menyebabkan defisiensi estrogen, yang mengganggu proses remodeling tulang, sehingga meningkatkan resorpsi tulang dan mengurangi pembentukan tulang, yang memicu terjadinya osteoporosis. Terapi antiosteoporosis bifosfonat memiliki efek samping yaitu gangguan gastrointestinal, dan fraktur femur atipikal, sehingga perlu terapi alternatif yang aman. *Tridax procumbens* (*T. procumbens*/TP) memiliki senyawa aktif yang berpotensi sebagai modulasi metabolisme tulang. Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi efek ekstrak *T. procumbens* pada sel osteoblas dan osteoklas tulang femur tikus pasca-ovariektomi.

Metode: Penelitian *eksperimental laboratorium* dengan rancangan *post-only control group* pada tikus Wistar betina (usia 10 minggu, 100–200 gram). Hewan dibagi menjadi lima kelompok: Sham, Ovariektomi (OVX), dan kelompok perlakuan OVX plus ekstrak *T. procumbens* 250, 500, dan 750 mg ($n=6$ per kelompok) dan total tikus 30. Sampel penelitian menggunakan tulang *Distal Femur Metaphysis* bagian kanan. Variabel penelitian yakni jumlah osteoblas dan osteoklas melalui metode histomorfometri jaringan tulang setelah pewarnaan *Hematoksilin Eosin* (H&E). Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran $400\times$ dengan menghitung jumlah sel pada setiap lapang pandang. Setiap preparat diamati pada 5 lapang pandang. Analisis data jumlah osteoblas menggunakan uji parametrik *One-Way ANOVA* dan jumlah osteoklas menggunakan uji non-parametrik *Kruskal Wallis*, dikatakan signifikan bila $p<0,05$.

Hasil: Pemberian ekstrak *T. procumbens* dosis 250 mg, 500 mg, dan 750 mg dapat meningkatkan jumlah osteoblas berturut-turut sebesar 60%, 80%, 116% dibandingkan kelompok OVX ($p<0,05$). Sedangkan pemberian ekstrak *T. procumbens* dosis 500 mg, dan 750 mg dapat menurunkan jumlah osteoklas berturut-turut sebesar 50%, dan 61% dibandingkan kelompok OVX ($p<0,05$). Kondisi ini diduga karena adanya senyawa antiinflamasi dan antioksidan pada *T. procumbens* yang dapat menekan stres oksidatif dan menghambat aktivasi jalur NF- κ B.

Simpulan: Ekstrak *T. procumbens* membantu perbaikan remodeling tulang pada tikus Wistar model menopause dengan cara meningkatkan osteoblas dan menurunkan osteoklas.

Kata Kunci: *Tridax procumbens*; Osteoblas; Osteoklas; Osteoporosis

SUMMARY

Devi Fitriani, Faculty of Medicine, University of Islamic Malang. Effect Of *Tridax procumbens* Extract On The Number Of Osteoblasts and Osteoclast in The Femur Bones Of Wistar Rats Post-Ovariectomy. **Supervisor 1:** Erna Sulistyowati, **Supervisor2:** Yoyon Arif Martino.

Introduction: Menopause causes estrogen deficiency, which disrupts bone remodeling processes, thereby triggering increased bone resorption and decreased bone formation, ultimately leading to osteoporosis. Bisphosphonate therapy for osteoporosis has side effects such as gastrointestinal disturbances and atypical femoral fractures, making it necessary to seek safe alternative therapies. *Tridax procumbens* (*T. procumbens*/TP) contains active compounds that have the potential to modulate bone metabolism. The objective of this study was to evaluate the effects of *T. procumbens* extract on osteoblasts and osteoclasts in the femurs of ovariectomized rats.

Methods: A laboratory experimental study with a post-only control group design in female Wistar rats (10 weeks old, 100–200 grams). The animals were divided into five groups: Sham, Ovariectomy (OVX), and treatment groups of OVX plus *T. procumbens* extract at 250, 500, and 750 mg (n=6 per group), for a total of 30 rats. The study sample used the right distal femur metaphysis. The study variables were the number of osteoblasts and osteoclasts, determined via bone tissue histomorphometry following Hematoxylin and Eosin (H&E) staining. Observations were conducted using a microscope at 400× magnification by counting the number of cells in each field of view. Each specimen was observed in 5 fields of view. Data analysis of the number of osteoblasts used the parametric One-Way ANOVA test, and the number of osteoclasts used the non-parametric Kruskal-Wallis test; results were considered significant if $p < 0,05$.

Results: Administration of *T. procumbens* extract at doses of 250 mg, 500 mg, and 750 mg increased the number of osteoblasts by 60%, 80%, and 116%, respectively, compared to the OVX group ($p < 0.05$). Meanwhile, administration of *T. procumbens* extract at doses of 500 mg and 750 mg reduced the number of osteoclasts by 50% and 61%, respectively, compared to the OVX group ($p < 0.05$). This effect is likely due to the anti-inflammatory and antioxidant compounds in *T. procumbens*, which can suppress oxidative stress and inhibit NF- κ B pathway activation.

Conclusion: *T. procumbens* extract promotes bone remodeling in Wistar rats with a menopausal model by increasing osteoblasts and decreasing osteoclasts.

Keywords: : *Tridax procumbens*; Osteoblasts; Osteoclasts; Osteoporosis

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan atas kehadiran Allah SWT, atas rahmat, taufik, serta hidayah-Nya. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat serta umatnya hingga akhir zaman. Alhamdulillah penyusunan Proposal Tugas Akhir penelitian yang berjudul **"Pengaruh Pemberian Ekstrak Gletang (*Tridax procumbens*) Terhadap Jumlah Osteoblas Dan Osteoklas Pada Tulang Femur tikus Wistar Pasca Ovariectomi"** ini dapat diselesaikan dengan baik dan lancar.

Judul diatas bermula dari keingintahuan penulis tentang efek pemberian *Tridax procumbens* terhadap jumlah Osteoblas dan Osteoklas pada tulang femur tikus Wistar betina setelah di ovariectomi. Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi bagi kemajuan ilmu pengetahuan dan dapat berguna bagi Masyarakat.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan Proposal Tugas Akhir ini masih banyak terdapat kekurangan di dalamnya. Kritik dan saran untuk penyempurnaan penyusunan Proposal Tugas Akhir ini sangat penulis harapkan, sehingga nantinya dapat memberikan hasil yang lebih baik.

Malang, 30 Mei 2026

Penyusun

Devi Fitriani

22201101080

Daftar Isi

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI.....	Kesalahan! Bookmark tidak ditentukan.
RIWAYAT HIDUP	vii
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
RINGKASAN	x
SUMMARY	xi
KATA PENGANTAR.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR TABEL.....	xx
DAFTAR SINGKATAN	xxi
DAFTAR LAMPIRAN	xxiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Penelitian	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Teoritis	5
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Estrogen.....	7

2.2 Hipoestrogen	9
2.2.1 Definisi Hipoestrogen	9
2.2.2 Patofisiologi Hipoestrogen.....	10
2.2.4 Gejala & Tanda Hipoestrogen	11
2.2.5 Tatalaksana Hipoestrogen	14
2.3 Tulang.....	17
2.3.1 Fisiologi Sistem Skeletal.....	17
2.3.2 Histologi Sistem Skeletal	23
2.3.3 Sistem Vaskularisasi dan Persarafan Tulang	32
2.3.4 Pembentukan dan Remodeling Tulang.....	35
2.4 Menopause dan Perubahan Fisiologis.....	40
2.4.1 Prevalensi Menopause.....	40
2.4.2 Definisi dan Klasifikasi Menopause	40
2.4.3 Komplikasi Jangka Panjang Menopause Pada Tulang.....	41
2. 5 Hipoestrogen Induced Osteoporosis	41
2.5.1 Prevalensi Hipoestrogen Menyebabkan Osteoporosis	41
2.6 Tanaman <i>T. procumbens</i>	46
2.6.1 Taksonomi dan morfologi <i>T. Procumbens</i>	47
2.6.2 Distribusi dan habitat	50
2.6.3 Senyawa aktif dan efek farmakologis <i>T. procumbens</i>	50

2.6.4 Mekanisme kerja senyawa aktif dalam <i>T. procumbens</i> terhadap osteoblas dan osteoklas	55
2.7 Kerangka Teori	58
BAB III KERANGKA KONSEP	60
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	60
3.2 Hipotesis Penelitian.....	61
3.2.1 Hipotesis 1.....	61
3.2.2 Hipotesis 2.....	61
3.2.3 Hipotesis 3.....	61
3.2.4 Hipotesis 4.....	62
3.3 Variabel Penelitian	62
3.3.1 Variabel Bebas.....	62
3.3.2 Variabel Terikat	62
3.4 Definisi Operasional Penelitian.....	62
BAB IV METODE PENELITIAN	65
4.1 Desain Penelitian.....	65
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	65
4.3 Sampel Penelitian.....	65
4.5 Perhitungan Jumlah Sampel Penelitian.....	65
4.7 Alat dan Bahan Penelitian	70
4.7.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Hewan Coba.....	70

4.7.2 Alat dan Bahan Ekstraksi <i>T. procumbens</i>	71
4.7.3 Alat dan Bahan Ovariectomi	71
4.7.4 Alat dan Bahan Pembuatan Slide/Preparat.....	72
4.7.5 Alat dan Bahan Pewarnaan Hematoksilin–Eosin (HE).....	72
4.7.6 Alat dan Bahan Aplikasi <i>Digital Histomorfometri</i>	73
4.8 Tahapan Penelitian	73
4.8.1 Metode Ekstraksi <i>T. procumbens</i>	73
4.8.2 Proses Pembedahan Pengambilan Ovarium.....	74
4.8.3 Pembuatan Preparat Tulang Femur	75
4.8.4 Pewarnaan Preparat Histologi Tulang Femur dengan Pewarnaan <i>Hematoksilin Eosin</i> (HE)	77
4.8.5 Kalibrasi mikroskop, Pemilihan bidang pengamatan , Histomorfometri Os Femur	78
4.9 Analisis Data	81
4.10 Alur Penelitian.....	83
BAB V HASIL DAN ANALISA DATA	84
5.1 Karakteristik Hewan Coba	84
5.2 Efek Ekstrak <i>T. procumbens</i> Pada Jumlah Osteoblas Tikus Wistar Pasca .	85
Ovariectomi.....	85
5.3 Efek Ekstrak <i>T. procumbens</i> Pada Jumlah Osteoklas Tikus Wistar Pasca	
Ovariectomi.....	87

BAB VI PEMBAHASAN.....	89
6.1 Karakteristik Hewan Coba	89
6.2 Ekstrak <i>T. procumbens</i> Meningkatkan Jumlah Osteoblas Pada Tikus Wistar Pasca Ovariektomi.	90
6.3 Ekstrak <i>T. procumbens</i> Menurunkan Jumlah Osteoklas Pada Tikus Wistar Pasca Ovariektomi.	94
6.4 Ekstrak <i>T. procumbens</i> Dapat Membantu Remodeling Jaringan Tulang	97
BAB VII PENUTUP	101
7.1 Kesimpulan	101
7.2 Saran.....	101
DAFTAR PUSTAKA	103
LAMPIRAN.....	130



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2. 1 Sintesis Hormon Estrogen	8
Gambar 2. 2 Struktur Tulang	20
Gambar 2. 3 Komponen Matrix Ekstraseluler	23
Gambar 2. 4 Komponen Matrix Ekstraseluler	25
Gambar 2. 5 Sel Osteoprogenitor di Dalam Sel Periosteum	26
Gambar 2. 6 Histologi Osteoblas.....	27
Gambar 2. 7 Osteoblastogenesis.....	28
Gambar 2. 8 Osteosit Dalam Lakuna.....	29
Gambar 2. 9 Morfologi Osteoklas	30
Gambar 2. 10 Osteoklastogenesis.....	31
Gambar 2. 11 Osteoklastogenesis.....	32
Gambar 2. 12 Suplai Darah Pada Tulang Panjang Dewasa.....	33
Gambar 2. 13 Mekanisme Osifikasi Intramembranosa	37
Gambar 2. 14 Mekanisme Osifikasi Endokondral.....	38
Gambar 2. 15 Remodeling Tulang.....	40
Gambar 2. 16 Perbandingan Proses Remodeling Tulang Sehat dan Tulang Yang Kekurangan Estrogen.....	42
Gambar 2. 17 Morfologi <i>T. procumbens</i> . A - Seluruh Tanaman, B - Daun, C - Batang, D - Bunga, E - Biji, F - Akar.....	50
Gambar 2. 18 Senyawa Fitokimia Flavonoid	51
Gambar 2. 19 Senyawa Fitokimia Alkaloid.....	52
Gambar 2. 20 Senyawa Fitokimia Tanin	52
Gambar 2. 21 Senyawa Fitokimia Saponin	53

Gambar 2. 22 Senyawa Fitokimia Terpenoid	53
Gambar 2. 23 Senyawa Fitokimia Turunan Asam Benzoat.....	54
Gambar 2. 24 Senyawa Fitokimia Karotenoid	54
Gambar 2. 25 Senyawa Fitokimia Lignans.....	54
Gambar 2. 26 Kerangka Teori.....	58
Gambar 3. 1 Kerangka Konsep.....	60
Gambar 4. 1 Pengelompokan Perlakuan Hewan Coba.....	69
Gambar 4. 2 Alur Penelitian	83
Gambar 5.1 Gambaran Histopatologi Jumlah Osteoblas dan Osteoklas Pada Tulang Femur Tikus Wistar Betina Berdasarkan Kelompok Perlakuan (HE, 400x).....	81
Gambar 5.2 Histogram Rata-Rata Jumlah Osteoblas Kelompok SHAM, OVX, OVX+TP250, OVX+TP500, OVX+TP750.....	82
Gambar 5.3 Histogram Rata-Rata Jumlah Osteoklas Kelompok SHAM, OVX, OVX+TP250, OVX+TP500, OVX+TP750.....	85

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2. 1 Komponen Tulang dan Fungsinya	23
Tabel 5. 1 Karakteristik Berat Badan Sampel Penelitian.....	80
Tabel 5. 2 Rata-Rata Jumlah Osteoblas Pada Kelompok SHAM, OVX, OVX+TP250, OVX+TP500, OVX+TP750	82
Tabel 5. 3 Rata-Rata Jumlah Osteoblas Pada Kelompok SHAM, OVX, OVX+TP250, OVX+TP500, OVX+TP750	84



DAFTAR SINGKATAN

ALP	: <i>Alkaline Phosphatase</i>
BMD	: <i>Bone Mineral Density</i>
BMP	: <i>Bone Morphogenetic Protein</i>
BMPs	: <i>Bone Morphogenetic Proteins</i>
BMU	: <i>Bone Multicellular Unit</i>
CFU-M	: <i>Colony Forming Unit-Macrophage</i>
CGRP	: <i>Calcitonin Gene-Related Peptide</i>
CMC-Na 1%	: <i>Carboxymethyl Cellulose Sodium – Natrium 1%</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
CTSK	: <i>Cathepsin K</i>
DEXA	: <i>Dual Energi X-ray Absorptiometry</i>
DHEA	: <i>Dihidroepiandrosteron</i>
E1	: <i>Estron</i>
E2	: <i>Estriol</i>
E3	: <i>β-estradiol</i>
ER α	: <i>Estrogen Receptor Alpha</i>
Er β	: <i>Estrogen Receptor Beta</i>
FSH	: <i>Follicle-Stimulating Hormone</i>

GnRH	: <i>Gonadotropin-Releasing Hormone</i>
GSM	: <i>Genitourinary Syndrome of Menopause</i>
HDL	: <i>High-Density Lipoprotein</i>
HRT	: <i>Hormone Replacement Therapy</i>
IGFs	: <i>Insulin-like Growth Factor</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
iNOS	: <i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i>
IOF	: <i>International Osteoporosis Foundation</i>
LCFA	: <i>Lateral Circumflex Femoral Arteries</i>
LDL	: <i>Low-Density Lipoprotein</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
LSD	: <i>Least Significance Different</i>
MCFA	: <i>Medial Circumflex Femoral Arteries</i>
M-CSF	: <i>Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
MMPs	: <i>Matrix Metalloproteinases</i>
MSC	: <i>Mesenchymal Stem Cells</i>
MTF	: <i>Master Transcription Factor</i>
NBF	: <i>Neutral Buffered Formalin</i>

NFATc1	: Nuclear Factor of Activated T cells Cytoplasmic 1
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor-κB</i>
NPY	: <i>Neuropeptida Y</i>
ONJ	: <i>Osteonecrosis of the Jaw</i>
OPG	: <i>Osteoprotegerin</i>
OVX	: <i>Ovariectomy</i>
PDGF	: <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
POI	: <i>Primary Ovarian Insufficiency</i>
PTH	: <i>Parathyroid Hormone</i>
RANK	: <i>Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B</i>
RANKL	: <i>Receptor Activator of Nuclear Factor kappa-B Ligand</i>
Runx2	: <i>Runt-related transcription factor 2</i>
SDG	: <i>Sustainable Development Goal</i>
SIBLING	: <i>Small Integrin-Binding Ligands N-linked Glycoprotein</i>
SP	: <i>Substance P</i>
SPSS	: <i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor – β</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
Wnt	: <i>Wingless related integration site</i>

$\alpha\upsilon\beta_3$: *Alpha-v Beta-3*

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Kelayakan Etik

Lampiran 2. Rencana Penelitian

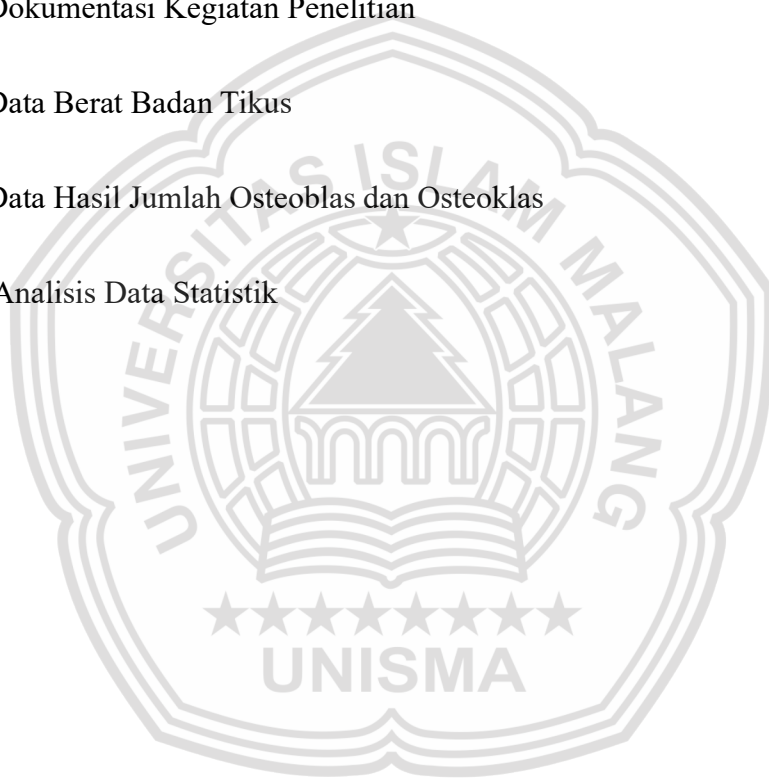
Lampiran 3. Surat Keterangan Penelitian

Lampiran 4. Dokumentasi Kegiatan Penelitian

Lampiran 5. Data Berat Badan Tikus

Lampiran 6. Data Hasil Jumlah Osteoblas dan Osteoklas

Lampiran 7. Analisis Data Statistik



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Menopause merupakan kondisi berhentinya menstruasi secara permanen dan fisiologis yang terjadi akibat penurunan kadar estrogen serta tidak berhubungan dengan keadaan patologis (Peacock *et al.*, 2023). Penyebab utama menopause adalah berhentinya fungsi ovarium, yang mengakibatkan penurunan hormon estrogen (Mou *et al.*, 2025). Sebagian besar wanita mengalami menopause pada usia 45–55 tahun (Yani, 2025). Diperkirakan pada tahun 2030, sekitar 1,2 miliar wanita di seluruh dunia akan mengalami menopause (Wu *et al.*, 2020). Berdasarkan pernyataan dari Kementerian Kesehatan Indonesia, jumlah wanita menopause di Indonesia pada tahun 2025 diperkirakan mencapai 60 juta (Flückiger *et al.*, 2025). Penurunan hormon estrogen selama menopause yang dikenal sebagai kondisi hipoestrogen, hal ini menyebabkan perubahan metabolisme dalam tubuh, dan meningkatkan risiko penyakit osteoporosis (Rasul *et al.*, 2025).

Osteoporosis adalah suatu kelainan metabolik pada tulang yang ditandai oleh penurunan massa tulang serta kerusakan mikroarsitektur, yang pada akhirnya meningkatkan kerentanan terhadap terjadinya fraktur (Morin *et al.*, 2025). Patofisiologi osteoporosis dicirikan oleh adanya ketidakseimbangan antara aktivitas resorpsi tulang yang dilakukan oleh osteoklas dan proses pembentukan tulang oleh osteoblas (Yang *et al.*, 2025). Osteoporosis pascamenopause umumnya disebabkan oleh defisiensi estrogen yang berperan penting dalam menjaga keseimbangan remodeling tulang (Lee *et al.*, 2026).

Penurunan kadar estrogen menyebabkan penurunan *Osteoprotegerin* (OPG), sehingga memperkuat interaksi RANK–RANKL yang mengaktivasi diferensiasi osteoklas melalui jalur NF- κ B Aktivasi jalur tersebut menyebabkan peningkatan resorpsi tulang yang tidak diimbangi oleh pembentukan tulang baru akibatnya aktivitas osteoblas menurun (Ena *et al.*, 2025; Cheng *et al.*, 2022). Kondisi osteoporosis sering tidak menunjukkan gejala pada tahap awal, tetapi seiring perkembangannya, kondisi ini dapat ditandai dengan nyeri tulang, penurunan tinggi badan, postur tubuh yang bungkuk, serta peningkatan risiko patah tulang, terutama pada panggul, tulang belakang (Reid, 2015). Faktor risiko utama mencakup usia tua, jenis kelamin perempuan, riwayat keluarga, berat badan rendah, merokok, alkohol, serta kekurangan kalsium dan vitamin D (Edwards *et al.*, 2008; Syam *et al.*, 2014). Risiko osteoporosis juga meningkat pada kondisi medis tertentu, seperti rheumatoid arthritis, hipertiroidisme, sindrom Cushing, dan penggunaan glukokortikoid (Saag, 2024). Pengetahuan tentang patofisiologi dan faktor risiko osteoporosis diperlukan untuk pencegahan dan pengobatan yang efektif.

Pengobatan osteoporosis lini pertama saat ini yaitu bisfosfonat yang berfungsi untuk menghambat aktivitas osteoklas dalam resorpsi tulang (Bellido, 2024). Bisfosfonat bekerja dengan berikatan pada kristal hidroksiapatit di permukaan tulang, menghambat fungsi dan aktivitas osteoklas, sehingga menurunkan *Bone turnover*, meningkatkan massa tulang, serta mengurangi risiko fraktur (Cremers *et al.*, 2019). Bisfosfonat yang sering digunakan adalah alendronat, risedronat, ibandronat, dan asam zoledronat, dengan perbedaan pada rute pemberian dan durasi efek (Ganesan *et al.*, 2023). Meskipun efektif dalam

meningkatkan kepadatan tulang, penggunaan jangka panjang bisfosfonat bisa menyebabkan efek samping serius seperti osteonekrosis rahang dan fraktur femur atipikal (Black & Rosen, 2016). Selain itu, biaya terapi biologik relatif tinggi dan aksesibilitasnya masih terbatas di negara berkembang (Sözen *et al.*, 2019). Terapi bifosfonat memiliki kelemahan efek samping dan biaya tinggi, sehingga diperlukan alternatif herbal yang lebih aman dan terjangkau.

Tridax procumbens (gletang) adalah salah satu tanaman herbal yang banyak ditemukan di Indonesia dan memiliki banyak manfaat, salah satunya sebagai obat antiosteoporosis (Berlin Grace *et al.*, 2020). *Tridax procumbens* (*T. procumbens*) merupakan tanaman obat yang secara tradisional digunakan dalam pengobatan herbal dan diketahui mengandung senyawa flavonoid seperti quercetin, kaempferol, luteolin, apigenin, dan triterpenoid seperti lupeol, botulin serta asam linoleat yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi (Jangid *et al.*, 2025). Penelitian oleh Guo *et al* (2012) menunjukkan bahwa kaempferol merupakan senyawa fitoestrogen yang memiliki kemiripan struktur dengan estrogen dan mampu mengaktifasi reseptor estrogen (ER), sehingga berperan dalam proses diferensiasi sel tulang melalui jalur pensinyalan estrogen (Guo *et al.*, 2012). Penelitian oleh Weaver (2016) menunjukkan bahwa flavonoid seperti quercetin dan luteolin mampu menghambat aktivasi NF- κ B, menurunkan ekspresi RANKL, serta menghambat diferensiasi osteoklas sehingga berpotensi memberikan efek osteoprotektif (Weaver *et al.*, 2016).

Penelitian terdahulu oleh Mamun *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa *T. procumbens* mampu menghambat diferensiasi osteoklas primer tikus melalui downregulation jalur NF- κ B (Al Mamun *et al.*, 2015). Sementara itu penelitian

Mamun *et al.*, (2020) *T. procumbens* merangsang diferensiasi osteoblast primer dengan meningkatkan alkaline phosphatase, osteocalcin, serta ekspresi BMP-2/4/7 dan Runx2, sehingga berpotensi meningkatkan *Bone Mineral Density* pada model *in vivo* tikus defisiensi kalsium (Mamun *et al.*, 2020). Bukti penelitian sebelumnya yang secara spesifik mengevaluasi efek ekstrak *T. procumbens* terhadap parameter osteoblas dan osteoklas pada tulang femur tikus Wistar betina dalam model menopause masih terbatas. Dengan demikian, penelitian ini memiliki urgensi tinggi dalam pengembangan terapi herbal antiosteoporosis melalui *experimental in vivo* serta kebaruan dalam pemanfaatan *T. procumbens* sebagai osteoprotektif pada tikus model menopause.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun masalah yang ingin di angkat dari penelitian ini adalah :

1. Apakah ovariectomi berpengaruh terhadap jumlah osteoblas pada tulang femur tikus Wistar?
2. Apakah ovariectomi berpengaruh terhadap jumlah osteoklas pada tulang femur tikus Wistar?
3. Apakah pemberian ekstrak *T. procumbens* dapat meningkatkan jumlah osteoblas pada tulang femur tikus Wistar pasca ovariectomi?
4. Apakah pemberian ekstrak *T. procumbens* dapat menurunkan jumlah osteoklas pada tulang femur tikus Wistar pasca ovariectomi?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan yang ingin di capai pada penelitian ini antara lain :

1. Mengetahui pengaruh ovariectomi terhadap jumlah osteoblas pada tulang femur tikus Wistar.
2. Mengetahui pengaruh ovariectomi terhadap jumlah osteoklas pada tulang femur tikus Wistar.
3. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *T. procumbens* terhadap peningkatan jumlah osteoblas pada tulang femur tikus Wistar pasca ovariectomi.
4. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *T. procumbens* terhadap penurunan jumlah osteoklas pada tulang femur tikus Wistar pasca ovariectomi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memperkuat landasan teori mengenai pengaruh *T.procumbens* dalam menjaga keseimbangan proses remodeling tulang melalui aktivitas osteoblas dan osteoklas, khususnya saat kondisi hipoestrogen pascamenopause.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini mendukung pencapaian tujuan pembangunan berkelanjutan *Sustainable Development Goal* (SDG) 3 yakni *Good Health and Well-being* untuk membantu mengembangkan terapi alternatif berbasis herbal yang meningkatkan kesehatan tulang dan mencegah osteoporosis pascamenopause. Selain itu, penelitian ini juga sejalan dengan *Sustainable Development Goal* (SDG) 15 yakni *Life on Land* melalui pemanfaatan

keanekaragaman hayati, khususnya tanaman *T. procumbens*, sebagai sumber daya alam yang berpotensi dikembangkan secara berkelanjutan untuk terapi herbal pada manusia.



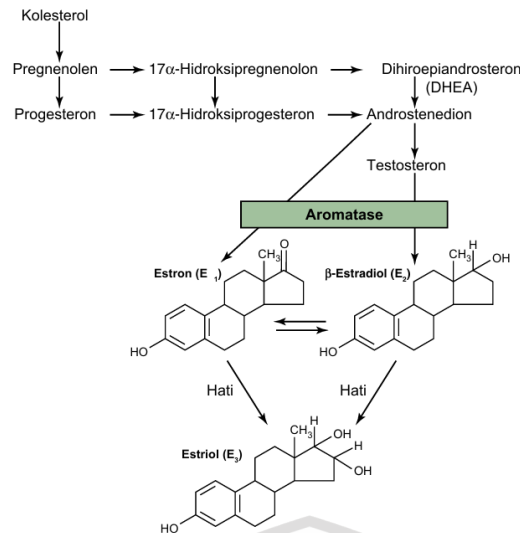
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Estrogen

2.1.1 Struktur dan Fungsi Estrogen

Estrogen adalah hormon steroid yang disintesis dari kolesterol melalui jalur steroidogenesis, sehingga secara kimia memiliki struktur yang merupakan turunan dari kolesterol (Hashem *et al.*, 2025). Ovarium merupakan tempat utama produksi estrogen, namun hormon ini juga dapat ditemukan di lemak dan kelenjar adrenal (Fuentes *et al.*, 2019). Dalam gambar **Gambar 2.1** menyebutkan bahwa kolesterol membentuk pregnenolone, yang kemudian terdapat dua jalur: pertama menjadi 17α -hydroxypregnenolone dan kemudian diubah menjadi *Dihidroepiandrosteron* (DHEA). Yang kedua pregnenolone menjadi progesteron, yang kemudian diubah menjadi 17α -hydroxyprogesterone dan androstenedione. Androstenedion dapat diubah menjadi testosteron, yang merupakan bahan dasar utama untuk produksi estrogen. Enzim aromatase memainkan peran penting dalam mengubah androstenedion menjadi *Estron* (E_1) dan testosteron menjadi β -estradiol (E_2). Kedua jenis estrogen ini dapat saling diubah sesuai kebutuhan tubuh. Setelah itu, estron dan β -estradiol dimetabolisme di hati menjadi *Estriol* (E_3), yang merupakan bentuk estrogen paling lemah di antara ketiganya (Hall, J.E. and Hall, 2025) .



Gambar 2. 1 Jalur Sintesis Hormon Estrogen

(Hall, J.E. and Hall, 2025)

2.1.2 Mekanisme Estrogen dalam Metabolisme Tulang

Estrogen berperan penting dalam memperpanjang umur osteoblas dan bertanggung jawab atas pembentukan tulang serta merangsang diferensiasi sel punca mesenkimal menjadi osteoblas. Estrogen meningkatkan proliferasi dan diferensiasi osteoblas melalui aktivasi *Estrogen Receptor Alpha* (ER α), yang merangsang ekspresi gen seperti *Runt-related transcription factor 2* (Runx2) sebagai protein pengatur dan osteokalcin sebagai protein non kolagen (Almeida *et al.*, 2013). Selain itu, estrogen memicu apoptosis osteoklas, yang menghambat aktivitas resorpsi tulang, sehingga menjaga integritas tulang (Thapa *et al.*, 2022). Pada tingkat molekuler, estrogen bekerja dengan menghambat ekspresi RANKL (*Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa-B Ligand*) pada osteoblas dan limfosit, yang berperan sebagai mediator utama dalam proses aktivasi dan diferensiasi osteoklas. (Streicher *et al.*, 2017). Resorpsi tulang merupakan fungsi utama osteoklas, dan aktivitas sel-sel ini dapat dihambat oleh adanya estrogen

melalui peningkatan produksi OPG (*Osteoprotegerin*) oleh osteoblas, yang mengikat RANKL dan mencegah osteoklastogenesis (Krum *et al.*, 2008).

Estrogen memiliki efek imunomodulator yang memengaruhi sel-sel imun yang terlibat dalam remodeling tulang. Estrogen mengurangi peradangan dengan menurunkan sitokin pro-inflamasi yang dapat meningkatkan aktivitas osteoklas, sehingga membantu menjaga homeostasis tulang (Karlafti *et al.*, 2019). Estrogen berperan dalam menekan sekresi sitokin proinflamasi, termasuk TNF- α , IL-1, dan IL-6 sekaligus memicu aktivasi jalur *Bone Morphogenetic Protein* (BMP), yang mendukung diferensiasi sel punca mesenkimal menjadi osteoblas (Luo *et al.*, 2025). Kekurangan estrogen menyebabkan proses remodeling tulang menjadi lebih aktif karena tubuh membentuk lebih banyak kelompok sel yang mengatur proses penghancuran dan pembentukan kembali tulang, memperpanjang fase resorpsi yang mengakibatkan peningkatan porositas kortikal, penipisan dan perforasi struktur trabekular, serta gangguan pada mikroarsitektur keseluruhan struktur tulang (Weitzmann *et al.*, 2006). Defisiensi estrogen yang terjadi pada wanita pascamenopause berkontribusi terhadap peningkatan aktivitas osteoklas serta penurunan kinerja osteoblas, sehingga mempercepat proses kehilangan massa tulang dan meningkatkan kerentanan terhadap kejadian fraktur (Almeida *et al.*, 2025). Estrogen sangat penting untuk menjaga metabolisme tulang, dan hilangnya estrogen mempercepat degradasi tulang (Luo *et al.*, 2025).

2.2 Hipoestrogen

2.2.1 Definisi Hipoestrogen

Hipoestrogen adalah kondisi medis yang ditandai dengan penurunan kadar estrogen di bawah rentang fisiologis normal, menyebabkan disfungsi pada jaringan dan organ yang bergantung pada hormon estrogen (Motlani *et al.*, 2023). Hipoestrogen sering dikaitkan dengan ketidakseimbangan hormonal selama fase perimenopause hingga menopause, yang ditandai dengan penurunan progresif produksi estrogen ovarium, terutama estradiol (E2) sebagai estrogen dengan aktivitas biologis tertinggi (Yang *et al.*, 2024). Secara fisiologis, estrogen memiliki peran penting dalam menjaga homeostasis jaringan reproduksi dan non-reproduksi, termasuk sistem genitourinari, skeletal, kardiovaskular, dan metabolik, sehingga defisiensi estrogen dapat menyebabkan perubahan struktural dan fungsional pada berbagai sistem organ (Di Naro *et al.*, 2021). Kondisi hipoestrogen ini bisa terjadi akibat kerusakan atau penurunan fungsi ovarium primer, seperti pada *Primary Ovarian Insufficiency* (POI), yang menyebabkan penurunan drastis dalam produksi estrogen, atau akibat gangguan pada hipotalamus-pituitari yang menghambat stimulasi gonadotropin, sehingga mengganggu produksi estrogen (Federici *et al.*, 2024).

2.2.2 Patofisiologi Hipoestrogen

Patofisiologi defisiensi estrogen (hipoestrogen) berawal dari gangguan pada aksis hipotalamus-hipofisis-ovarium yang dapat disebabkan oleh kegagalan ovarium prematur, menopause alami, atau intervensi medis seperti ovariectomi (Kapoor, 2023). Berkurangnya produksi estrogen menginduksi mekanisme umpan balik positif pada hipotalamus, yang selanjutnya meningkatkan sekresi *Gonadotropin-Releasing Hormone* (GnRH) serta memicu kenaikan kadar *Follicle-Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) (Muhammad, 2025).

2.2.3 Mekanisme Hipoestrogen Dalam Kerusakan Tulang dan Kardiovaskular

Defisiensi estrogen menyebabkan downregulasi ekspresi gen target estrogen dan peningkatan produksi sitokin pro-inflamasi seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α (Cheng *et al.*, 2022). Mekanisme ini mengaktifkan sistem RANK/RANKL/OPG yang meningkatkan aktivitas osteoklas, sekaligus menyebabkan disfungsi endotel vaskular (Bell, 2003). Hipoestrogen menyebabkan peningkatan resorpsi tulang melalui peningkatan ekspresi RANKL pada osteoblast (Zhivodernikov *et al.*, 2023). Terjadi penurunan produksi osteoprotegerin (OPG) disertai peningkatan aktivitas osteoklas dan penurunan absorpsi kalsium intestinal (Cheng *et al.*, 2022).

Pada sistem kardiovaskular, defisiensi estrogen menyebabkan disfungsi endotel vaskular dan peningkatan resistensi insulin (Xia and Khalil, 2025). Terjadi perubahan profil lipid dengan peningkatan LDL, penurunan HDL, dan peningkatan risiko aterosklerosis (Raj *et al.*, 2023). Pada sistem saraf pusat, hipoestrogen memicu gangguan termoregulasi yang bermanifestasi sebagai hot flashes, gangguan mood dan kognitif, serta perubahan pola tidur (Williams and Maki, 2025). Manifestasi klinis hipoestrogen meliputi amenore atau oligomenore, osteoporosis dengan peningkatan risiko fraktur (Eastell *et al.*, 2016). Perjalanan penyakit hipoestrogen ini dipengaruhi oleh berbagai faktor modifikasi seperti usia, durasi defisiensi, status nutrisi, aktivitas fisik, dan faktor genetik (Yang *et al.*, 2022).

2.2.4 Gejala & Tanda Hipoestrogen

Hipoestrogen atau defisiensi estrogen menunjukkan penurunan kadar estrogen pada perempuan dapat menimbulkan gejala yang banyak, meliputi gejala

vasomotor, urogenital, psikologis, serta perubahan pada kulit dan rambut (Yang *et al.*, 2025).

1. Gejala vasomotor merupakan manifestasi klinis yang paling khas pada hipoeostrogenisme dan ditandai oleh sensasi panas mendadak atau *hot flashes*, umumnya dirasakan pada wajah, leher, dan dada, serta disertai keringat malam yang dapat mengganggu kualitas tidur (Yang *et al.*, 2025). Sekitar 50–75% wanita dengan kadar estrogen yang menurun mengalami gejala vasomotor berupa *hot flashes* dan keringat malam, dengan variasi durasi serta intensitas yang berlangsung sepanjang fase perimenopause hingga pascamenopause (Duralde *et al.*, 2023).
2. Gejala urogenital saat kondisi hipoeostrogenisme sering diklasifikasikan sebagai *Genitourinary Syndrome of Menopause* (GSM), yang mencakup atrofi vulvovaginal, kekeringan vagina, dispareunia, serta gangguan fungsi saluran kemih akibat rendahnya kadar estrogen. Kondisi GSM ini mencerminkan dampak defisiensi estrogen pada jaringan urogenital yang sangat bergantung pada estrogen untuk mempertahankan elastisitas jaringan, ketebalan epitel, serta lubrikasi mukosa vagina (Hayati and Sansuwito, 2025).
3. Selama masa transisi menopause, seringkali muncul gangguan psikologis dan kognitif, termasuk perubahan suasana hati yang drastis, mudah marah, kecemasan, gejala depresi, serta penurunan daya ingat dan konsentrasi yang sering disebut sebagai *Brain fog* (Yang *et al.*, 2025). Penurunan kadar estrogen diketahui memengaruhi sistem saraf pusat dan regulasi

neurotransmitter, sehingga berkontribusi terhadap munculnya gejala psikologis dan gangguan kognitif tersebut (Duralde *et al.*, 2023).

4. Perubahan kulit serta rambut, mengingat estrogen berperan penting dalam menjaga produksi kolagen, elastisitas, hidrasi kulit, serta siklus pertumbuhan rambut. Penurunan kadar estrogen dapat menyebabkan perubahan pada kulit, seperti kulit yang semakin kering, menipis, dan munculnya kerutan, serta rambut yang lebih rapuh dan tipis, hal ini mencerminkan gejala sistemik hipoestrogenisme pada berbagai organ di luar sistem reproduksi (Zalaudek and Sabovi, 2024).

Tanda jangka panjang hipoestrogenisme mencakup berbagai dampak sistemik yang berkembang secara progresif akibat defisiensi estrogen yang berlangsung kronis.

1. Defisiensi estrogen berkontribusi terhadap peningkatan aktivitas osteoklas dalam proses resorpsi tulang, yang pada akhirnya mempercepat penurunan massa tulang serta secara bermakna meningkatkan risiko terjadinya osteoporosis dan fraktur, khususnya pada pinggul, pergelangan tangan serta tulang belakang (Rani *et al.*, 2023).
2. Estrogen juga memiliki peran protektif terhadap sistem kardiovaskular melalui pengaturan fungsi endotel dan metabolisme lipid, sehingga penurunan kadar estrogen dikaitkan dengan peningkatan risiko penyakit kardiovaskular aterosklerotik pada wanita pascamenopause (Mou *et al.*, 2025).
3. Hipoestrogenisme menyebabkan terjadinya disfungsi seksual pada wanita, yang ditandai dengan penurunan libido, berkurangnya lubrikasi vagina, dan

nyeri saat berhubungan seksual akibat perubahan struktural dan fungsional jaringan genital serta pengaruh hormonal terhadap respons seksual (Scavello *et al.*, 2019) .

2.2.5 Tatalaksana Hipoestrogen

Tatalaksana hipoestrogen dimulai dengan penilaian menyeluruh terhadap etiologi, durasi, dan tingkat keparahan defisiensi estrogen, serta evaluasi dampaknya pada berbagai sistem organ (Stuenkel *et al.*, 2015). Anamnesis terperinci meliputi pola menstruasi, gejala vasomotor, gangguan urogenital, dan perubahan mood, dilengkapi dengan pemeriksaan fisik lengkap termasuk indeks massa tubuh dan evaluasi tanda-tanda defisiensi estrogen (Nedrow & Miller., 2024) . Pemeriksaan penunjang utama meliputi pengukuran kadar FSH, LH, dan estradiol serum, serta penilaian kepadatan tulang dengan DEXA scan pada kasus yang dicurigai osteoporosis (Eastell *et al.*, 2016).

1. Terapi Non-Farmakologis Modifikasi gaya hidup merupakan dasar tatalaksana hipoestrogen. Kegiatan fisik yang dilakukan secara rutin, khususnya latihan beban dan weight-bearing exercise, telah terbukti berkontribusi dalam meningkatkan kepadatan tulang serta menurunkan risiko terjadinya osteoporosis (Mohebbi *et al.*, 2023). Pemenuhan nutrisi yang memadai dengan asupan kalsium sebesar 1200–1500 mg per hari serta vitamin D sebesar 800–1000 IU per hari dianjurkan untuk menunjang kesehatan tulang (Tella and Gallagher, 2014). Terapi perilaku kognitif dan teknik relaksasi efektif mengurangi gejala vasomotor dan gangguan mood (Hunter, 2021).

2. Terapi Farmakologis yaitu Terapi hormon estrogen merupakan standar emas pengobatan hipoestrogen, dengan berbagai rute pemberian termasuk oral, transdermal, dan topikal (Mukherjee and Davis, 2025). Estrogen konjugasi equine 0.3-0.625 mg/hari atau estradiol mikronisasi 0.5-2 mg/hari merupakan pilihan utama, dengan penyesuaian dosis berdasarkan respons klinis dan efek samping (Graham *et al.*, 2022). Pada pasien dengan uterus lengkap, pemberian estrogen harus dikombinasi dengan progestin untuk mencegah hiperplasia endometrium (Stute *et al.*, 2024).
3. Terapi Non-Hormonal Untuk pasien dengan kontraindikasi terapi hormon, modulator reseptor estrogen selektif seperti raloxifene 60 mg/hari efektif mencegah osteoporosis dan mengurangi risiko kanker payudara (Meeta *et al.*, 2020). Bifosfonat termasuk alendronate 70 mg/minggu atau zoledronic acid 5 mg/tahun digunakan untuk pengobatan osteoporosis terkait hipoestrogen (Miller *et al.*, 2016). Agen antiresorpsi denosumab 60 mg setiap 6 bulan merupakan alternatif efektif untuk pasien dengan intoleransi bifosfonat (Cummings *et al.*, 2009).
4. Terapi Gejala Spesifik :
 - a. Gejala vasomotor: Pemberian paroxetine mesylate dosis 7,5 mg per hari atau venlafaxine dosis 37,5–75 mg per hari direkomendasikan sebagai terapi lini pertama dalam penatalaksanaan gejala vasomotor pada pasien yang memiliki kontraindikasi terhadap penggunaan estrogen (Simon *et al.*, 2013). Gabapentin 300-900 mg/hari atau pregabalin 50-150 mg/hari efektif mengurangi frekuensi dan intensitas hot flashes (Shan *et al.*, 2020).

- b. Gejala Urogenital: Terapi estrogen topikal dengan estradiol vaginal cream 0.01% atau tablet vagina 10 mcg aplikasi 2-3 kali/minggu efektif mengatasi atrofi urogenital dan gejala dysuria (ACOG, 2014). Ospemifene 60 mg/hari oral merupakan alternatif non-hormonal untuk dispareunia akibat atrofi vulvovaginal (DeGregorio *et al.*, 2014).
5. Monitoring dan Evaluasi Pemantauan respons terapi dilakukan setiap 3 bulan pada tahun pertama, meliputi evaluasi gejala, tekanan darah, berat badan, dan skrining efek samping (Stuenkel *et al.*, 2015). Pemeriksaan kepadatan tulang dengan DEXA diulang setiap 1-2 tahun untuk menilai respons terapi osteoporosis (Eastell *et al.*, 2016). Evaluasi rasio manfaat-risk terapi hormon dilakukan secara individual minimal setiap tahun, dengan pertimbangan penghentian atau penyesuaian dosis berdasarkan respons klinis (NAMS, 2017).
6. Pendekatan Individualisasi Terapi Tatalaksana hipoestrogen memerlukan pendekatan personalized berdasarkan usia, lama menopause, faktor risiko kardiovaskular, dan preferensi pasien (Duralde *et al.*, 2023). Pemberian terapi hormon dianjurkan pada perempuan menopause yang berusia kurang dari 60 tahun atau berada dalam kurun waktu hingga 10 tahun sejak menopause, dengan syarat tidak terdapat kontraindikasi (NAMS, 2017). Pada wanita dengan risiko tromboemboli vena, preferensi diberikan pada estrogen transdermal dengan dosis rendah (Hicks *et al.*, 2025).
7. Edukasi Pasien dan Konseling Edukasi komprehensif meliputi pemahaman tentang kondisi, tujuan terapi, manfaat dan risiko pengobatan, serta pentingnya kepatuhan (Stuenkel *et al.*, 2015). Konseling gaya hidup

termasuk pengaturan diet, aktivitas fisik, dan penghentian merokok merupakan komponen integral tatalaksana holistic (Rippe, 2018).

2.3 Tulang

2.3.1 Fisiologi Sistem Skeletal

Sistem skeletal merupakan jaringan yang bersifat dinamis, yang selain berfungsi sebagai penopang struktural tubuh, juga memiliki peran sebagai organ endokrin aktif, lokasi hematopoiesis, serta tempat penyimpanan mineral (Hall, J.E. and Hall, 2025). Fisiologi tulang melibatkan berbagai proses kompleks, termasuk osteogenesis, regulasi homeostasis, serta remodeling tulang yang berkelanjutan, yang seluruhnya diatur melalui interaksi antara sel-sel tulang, sinyal hormonal, dan faktor mekanik (Rowe *et al.*, 2023)(Rowe, P., Koller, A., Sharma, 2023).

a. Fungsi Utama Tulang

Sistem skeletal berfungsi sebagai penyangga utama yang menjaga bentuk dan posisi tubuh, sekaligus membantu pergerakan karena merupakan titik perlekatan otot-otot skeletal (Scheinflug *et al.*, 2018). Tulang juga memiliki fungsi protektif dengan melindungi organ-organ vital, termasuk otak, sumsum tulang belakang, jantung, paru-paru, serta organ panggul, dari berbagai bentuk trauma atau benturan (Wawrzyniak and Balawender, 2022). Selain itu, tulang berperan sebagai reservoir mineral, termasuk kalsium, fosfat, dan magnesium, serta menjadi lokasi berlangsungnya pembentukan sel darah melalui proses hematopoiesis (Madsen *et al.*, 2020).

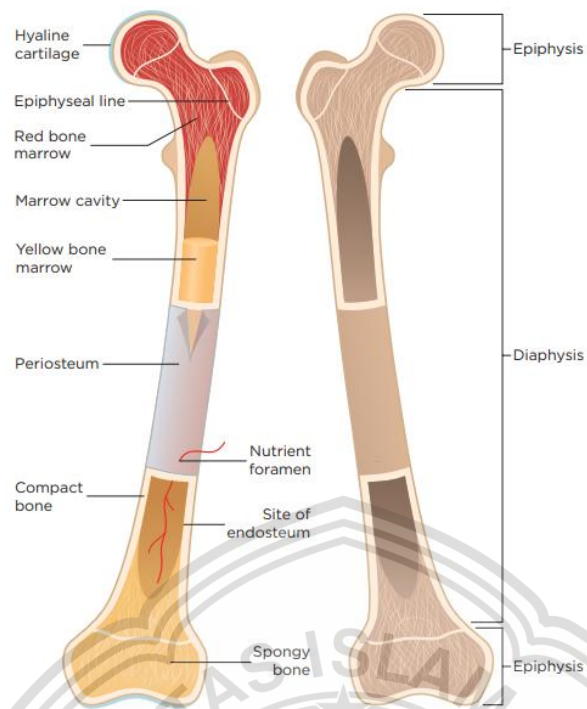
b. Struktur dan Komposisi Tulang

Struktur tulang dapat dipelajari secara makroskopis dengan mengamati bagian-bagian yang membentuk tulang panjang, seperti tulang femur (tulang paha) (Walker, 2020). Tulang panjang didefinisikan sebagai tulang yang lebih panjang daripada lebarnya (Tortora and Derrickson, 2014). Secara umum, tulang panjang terdiri dari beberapa bagian utama, lihat pada **Gambar 2.2** sebagai berikut:

1. Diafisis adalah batang atau inti tulang, yang berbentuk silinder dan membentuk komponen utama tulang.
2. Epifisis adalah ujung tulang yang terletak di ujung proksimal dan distal, yang berperan dalam membentuk sendi dengan tulang lain.
3. Metafisis merupakan bagian tulang yang berada di antara diafisis dan epifisis. Pada tulang yang masih mengalami pertumbuhan, area ini mengandung lempeng epifisis yang berfungsi sebagai lempeng pertumbuhan, yang terbuat dari kartilago hialin dan memungkinkan tulang tumbuh lebih panjang. Setelah pertumbuhan berhenti, biasanya sekitar usia 14–24 tahun, kartilago ini mengalami osifikasi dan membentuk garis epifisis.
4. Kartilago artikular merupakan lapisan tipis berupa kartilago hialin yang melapisi permukaan epifisis pada daerah persendian. Struktur ini berperan dalam meminimalkan gesekan sekaligus menyerap tekanan pada sendi yang memiliki mobilitas bebas. Namun, karena tidak dilengkapi dengan perikondrium maupun suplai pembuluh darah, kapasitas regenerasinya sangat terbatas.
5. Periosteum merupakan membran jaringan ikat kuat yang melapisi permukaan tulang, kecuali pada bagian yang tertutup oleh kartilago

artikular. Struktur ini tersusun atas lapisan luar yang bersifat fibrosa dan lapisan dalam yang bersifat osteogenik, yang mengandung sel-sel pembentuk tulang. Periosteum berperan dalam pertumbuhan tulang secara tebal, perlindungan tulang, perbaikan patah tulang, nutrisi jaringan tulang, dan sebagai tempat penempelan tendon dan ligamen. Periosteum melekat pada tulang melalui serat perforasi atau serat Sharpey yang terbuat dari kolagen.

6. Rongga medula (rongga sumsum tulang) adalah ruang silinder di dalam diafisis yang pada orang dewasa berisi *Yellow bone marrow* dan pembuluh darah. Kehadiran rongga ini mengurangi berat tulang tanpa mengurangi kekuatannya, sehingga desain tabung tulang panjang memberikan kekuatan maksimum dengan berat minimal.
7. Endosteum adalah lapisan tipis yang melapisi permukaan bagian dalam kavitas meduler. Struktur ini terdiri dari satu lapisan osteoblas yang disertai sejumlah kecil jaringan ikat, dan berperan dalam pertumbuhan serta pembentukan kembali tulang (Tortora and Derrickson, 2014).



Gambar 2. 2 Struktur Tulang

(Walker, 2020)

Komposisi tulang terdiri dari tiga komponen utama, yaitu sekitar 25% matriks organik, 50% mineral anorganik, dan 25% air (Luo and Amromanoh, 2021). Matriks ekstraseluler tulang merupakan komponen utama jaringan tulang, membentuk sebagian besar volumenya, serta terdiri dari dua bagian utama, yaitu matriks anorganik (mineral) dan matriks organik (Lin *et al.*, 2020). Komponen penyusun matriks ekstraseluler pada tulang meliputi sekitar 40% bahan organik dan 60% bahan anorganik. Proporsi tersebut dapat berbeda-beda bergantung pada beberapa faktor, seperti usia, jenis kelamin, serta kondisi kesehatan individu. Bagian anorganik terutama terdiri dari apatit yang rendah kalsium, Adapun komponen organik memiliki susunan yang lebih kompleks, yang tersusun atas

kolagen tipe I sebanyak 90% serta berbagai protein nonkolagen lainnya (10%) (Mansour *et al.*, 2017)

Matriks ekstraseluler organik terdapat sekitar 10-40% dan memainkan peran penting dalam memberikan kelenturan pada jaringan tulang (Donnaloja *et al.*, 2020). Matriks organik diproduksi oleh osteoblas dan sebagian besar terdiri dari kolagen tipe I, yang berisikan sekitar 90% dari total protein organik, serta protein non-kolagen seperti osteokalcin, osteonektin, osteopontin, proteoglikan, dan berbagai faktor pertumbuhan yang berperan dalam pembentukan osteoid, mineralisasi, dan remodeling tulang (Schlesinger *et al.*, 2025). Matriks ekstraseluler organik memiliki protein kolagen yang melimpah, yaitu kolagen tipe I, III, dan V (Lin *et al.*, 2020). Kolagen tipe I merupakan jenis kolagen yang paling dominan pada jaringan tulang, dengan proporsi mencapai 95% dari keseluruhan kolagen, serta berperan utama dalam proses pembentukan serat kolagen, kemudian berinteraksi dengan jenis kolagen lain dan protein non-kolagen untuk membentuk bundel serat dan serat (Rico-llanos *et al.*, 2021). Protein non-kolagen dibagi menjadi empat klasifikasi, yaitu protein yang mengandung γ -karboksiglutamat, proteoglikan, glikoprotein, dan *Small Integrin-Binding Ligands N-linked Glycoprotein* (SIBLING), serta ditunjukkan pada **Gambar 2.3** (Lin *et al.*, 2020). Secara fungsional, komponen organik memberikan ketahanan terhadap gaya tarik dan membentuk osteoid, yang kemudian dimineralisasi oleh komponen anorganik untuk menghasilkan jaringan tulang matur yang kuat dan kaku (Hart *et al.*, 2020).

Matriks anorganik berfungsi sebagai tempat penyimpanan utama mineral dalam tubuh, mencakup hampir seluruh cadangan kalsium (sekitar 99%) dan sebagian besar fosfor, magnesium, serta ion lainnya, serta mineral tersebut

disimpan dalam tulang sebagai hidroksiapatit $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, yang memberikan kekuatan struktural dan ketahanan terhadap tekanan (Elaine Yu, 2023). Hidroksiapatit dalam tulang tidak tersusun dari hidroksiapatit murni, karena kristal apatit kecil ini mengandung berbagai ion lain, seperti kalium, magnesium, strontium, dan natrium, yang dapat menggantikan ion kalsium, serta karbonat, yang menggantikan sekitar 4–6% kelompok fosfat, dan klorida atau fluorida, yang menggantikan ion hidroksil (Rosa *et al.*, 2025). Komponen mineral memiliki kontribusi yang sangat penting dalam menentukan tingkat kekuatan dan kekakuan pada jaringan tulang (Rosa *et al.*, 2025).

Keberadaan air memiliki peranan penting dalam komposisi jaringan tulang karena terkandung di dalam matriks kolagen, sehingga berkontribusi dalam mempertahankan hidrasi serta fleksibilitas tulang, serta membentuk lapisan hidrasi dengan ion di sekitar kristal hidroksiapatit yang memfasilitasi pertukaran ion antara kristal dan cairan tubuh (Mescher *et al.*, 2018).

Bone ECM	Expressed from	Function in bone tissue
Organic ECM		
Collagenous protein		
Type I collagen	Osteoblast	- Scaffold for bone cells - Maintain bone strength - Promote bone formation - Regulate collagen fibrillogenesis - Promote bone
Types III and V collagen	Bone	
Noncollagenous protein		
Proteoglycans		
Biglycan	Osteoblast	- Promote collagen fibrillogenesis - Promote bone formation
Decorin	Osteoblast	- Promote collagen fibrillogenesis - Promote bone formation
Keratocan	Osteoblast	- Promote mineral deposition rates
Asporin	Articular cartilage or periodontal tissue	- Promote collagen mineralization
γ-carboxyglutamic acid-containing proteins		
Osteocalcin	Osteoblast	- Regulate calcium metabolism - Indicate bone formation
Matrix Gla Protein (MGP)	Osteoblast, osteocyte, and chondrocyte	- Inhibit bone formation and mineralization
Perlestin	Osteoblast and precursor cells	- Regulate collagen fibrillogenesis - Maintain bone strength
Glycoproteins		
Osteonectin	Osteoblast	- Promote bone formation and mineralization - Regulate collagen fibrillogenesis - Maintain biomechanical properties
Thrombospondins	Osteoblast	- Promote bone formation
R-spondins	Bone	- Regulate collagen fibrillogenesis - Promote Wnt/β-catenin signaling - Regulate bone development
Small integrin-binding ligand N-linked glycoproteins (SIBLINGs)		
BSP	Mineralized tissues	- Promote bone formation and mineralization
OPN	Osteoblast, odontoblast and osteocyte	- Promote bone formation and mineralization - Regulate bone remodeling
DMP1	Osteocyte and dentin	- Regulate phosphate metabolism - Promote bone mineralization
MEPE	Osteocyte and dentin	- Regulate phosphate metabolism - Promote bone mineralization
Inorganic ECM		
Hydroxyapatite	Bone	- Biomineralization

Gambar 2. 3 Komponen Matrix Ekstraseluler

(Lin *et al.*, 2020)

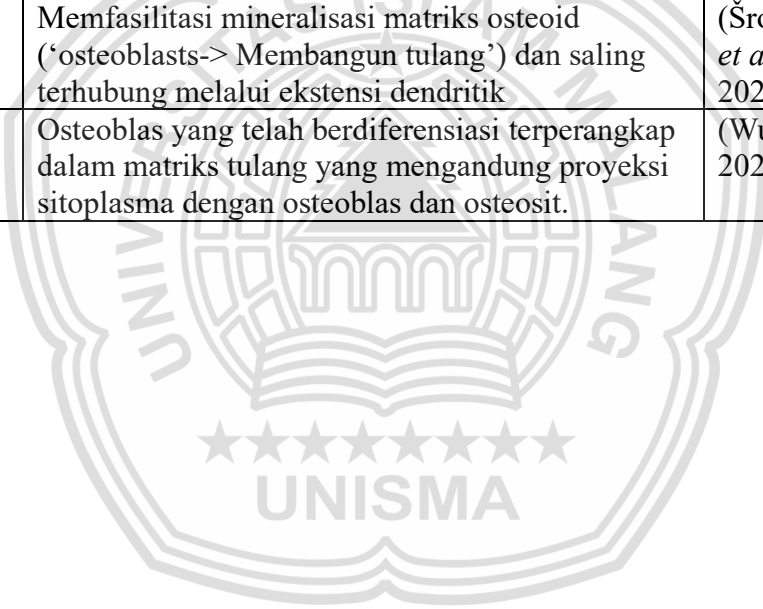
2.3.2 Histologi Sistem Skeletal

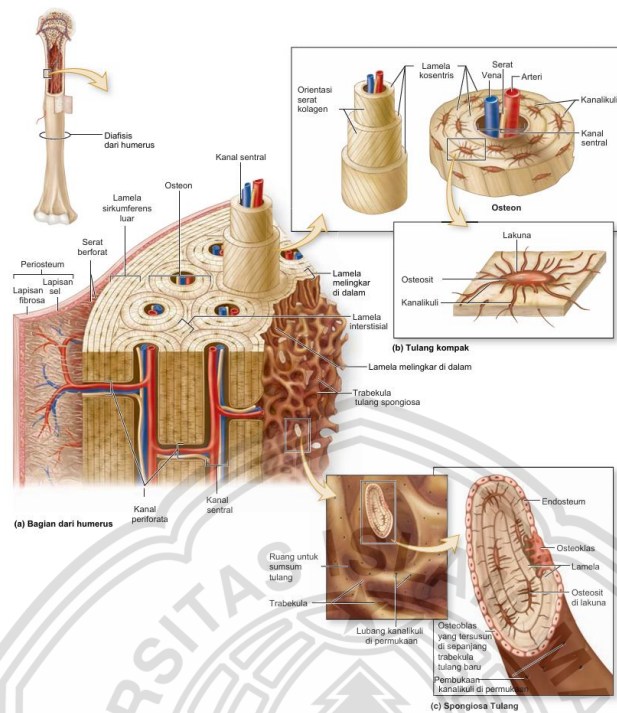
Secara histologis, Tulang merupakan jaringan yang bersifat dinamis karena senantiasa mengalami proses remodeling secara berkelanjutan sepanjang kehidupan, melibatkan sel-sel khusus, matriks organik, dan komponen mineral (Michael *et al.*, 2011). Histologi komponen seluler tulang bisa dilihat pada **Tabel 2.1 dan Gambar 2.4**

Tabel 2. 1 Komponen Tulang dan Fungsinya

Komponen Tulang	Fungsi	Referensi
Tulang Spongiosa	Jaringan tulang berongga seperti spons, tersusun dari jaringan trabekula (lapisan sumsum tulang dan pembuluh darah), mengandung sumsum tulang, mengandung kanalikuli (menghubungkan antara rongga-rongga yang berdekatan)	(Wang <i>et al.</i> , 2022)

Tulang Kompak	Osteon merupakan unit struktural dan fungsional tulang kortikal yang terdiri dari osteosit, lamina, jaringan lakunokanalikular, dan kanal havers, serta memiliki peranan yang penting dalam mekanisme biomekanik tulang dan proses remodeling jaringan tulang.	(Chang and Liu, 2022)
Periosteum	Lapisan jaringan ikat tipis yang menyelubungi permukaan tulang berperan dalam perkembangan tulang dan penyembuhan fraktur.	(Xin <i>et al.</i> , 2023)
Endosteum	Lapisan jaringan ikat tipis yang melapisi bagian dalam permukaan tulang dan mengandung sel-sel osteogenik yang berperan dalam pertumbuhan, perbaikan, dan remodeling tulang.	(Nakai <i>et al.</i> , 2025)
Osteoklas	Menghilangkan tulang selama pertumbuhan dan remodeling ('osteoklas -> C memotong tulang') dan terletak di lakuna howship. Aktivitasnya terjadi di batas bergelombang di mana osteoklas melepaskan cathepsin K dan kolagenase.	(Panwar <i>et al.</i> , 2024)
Osteoblas	Memfasilitasi mineralisasi matriks osteoid ('osteoblasts-> Membangun tulang') dan saling terhubung melalui ekstensi dendritik	(Šromová <i>et al.</i> , 2023)
Osteosit	Osteoblas yang telah berdiferensiasi terperangkap dalam matriks tulang yang mengandung proyeksi sitoplasma dengan osteoblas dan osteosit.	(Wu <i>et al.</i> , 2025)





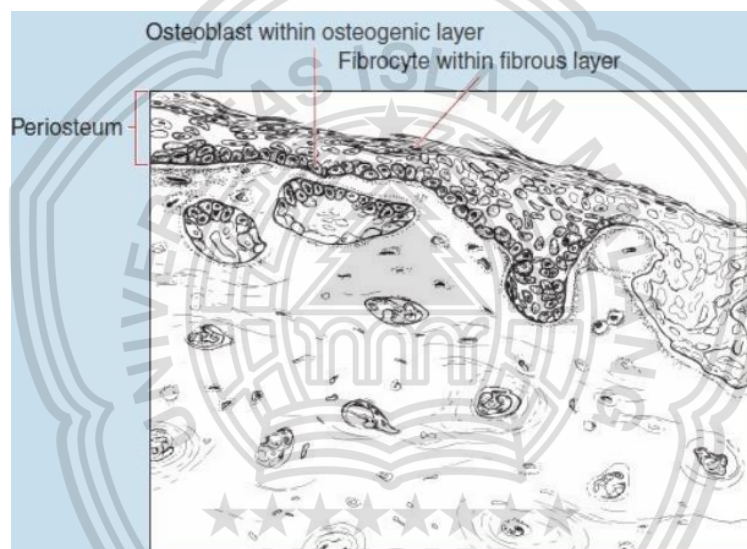
Gambar 2. 4 Komponen Matrix Ekstraseluler
(Mescher., 2023)

a. Sel Tulang

1. Osteoprogenitor

Sel osteoprogenitor, juga dikenal sebagai sel osteogenik, merupakan sel punca dalam jaringan tulang yang memiliki peran penting dalam pertumbuhan dan perbaikan tulang (Nahian, A. & Davis, 2020). Sel osteoprogenitor terdapat pada permukaan eksternal dan internal tulang, yang masing-masing dilapisi oleh jaringan ikat berupa periosteum dan endosteum tipis di rongga sumsum tulang panjang (Le *et al.*, 2017). Sel osteoprogenitor berada pada bagian luar maupun bagian dalam tulang, yang masing-masing diselubungi oleh jaringan ikat berupa periosteum pada permukaan eksternal serta endosteum tipis yang melapisi rongga sumsum

pada tulang panjang (Kamel *et al.*, 2024). Sel osteoprogenitor, yang dikenal sebagai preosteoblast, merupakan sel berbentuk spindel yang terdapat pada lapisan sel osteogenik pada tulang matang yang tidak lagi menunjukkan aktivitas remodeling atau pembentukan tulang (Nahian, A. & Davis, 2020) lihat pada **Gambar 2.5**. Kapasitas regeneratif sel progenitor tulang pada tulang panjang dipengaruhi oleh usia dan estrogen, menyebabkan kapasitas ini menurun selama proses penuaan dan pascamenopause, seperti yang dilaporkan dalam berbagai studi (Weng *et al.*, 2022).



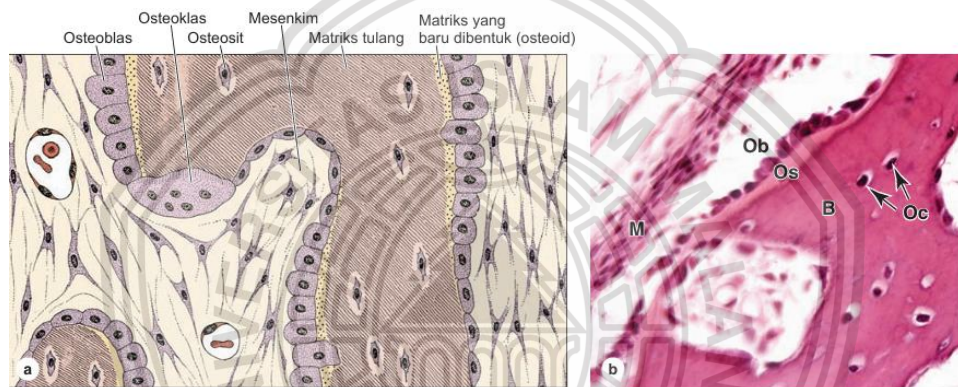
Gambar 2. 5 Sel Osteoprogenitor di Dalam Sel Periosteum

(Tallitsch *et al.*, 2021)

2. Osteoblas

Osteoblas berperan dalam sintesis berbagai protein ekstraseluler, termasuk osteokalsin, fosfatase alkali, serta kolagen tipe I, dengan kolagen tipe I merupakan komponen utama yang mencakup lebih dari 90% total protein pada matriks tulang (Jung *et al.*, 2020). Osteoblas berasal dari *Mesenchymal Stem Cells* (MSC), serta osteoblas yang telah ditugaskan untuk mempertahankan lapisan pembentukan tulang, kemudian

berdiferensiasi menjadi osteosit yang tertanam dalam matriks dan berkomunikasi dengan osteoblas permukaan melalui proses intraseluler di dalam kanalikuli (Blair and Larroure, 2017). Osteoblas yang aktif mensintesis matriks memiliki bentuk kuboid hingga silindris dengan sitoplasma yang basofilik, namun ketika aktivitas sintesis menurun sel tersebut menjadi pipih dengan sifat basofilik yang berkurang, dan osteoblas aktif umumnya membentuk lapisan sel di permukaan tulang, termasuk pada endosteum dan periosteum (Mescher, 2023). **Lihat pada Gambar 2.6**

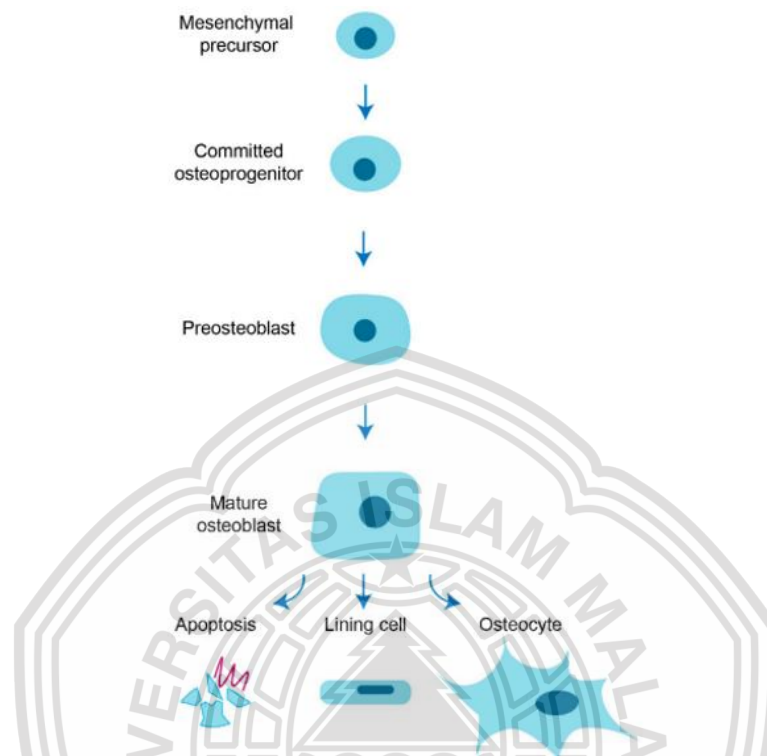


Gambar 2. 6 Histologi Osteoblas

(Mescher, 2023)

Osteoblastogenesis: Osteoblas berasal dari sel progenitor mesenkimal multipoten yang mengalami komitmen menjadi sel osteoprogenitor, kemudian berdiferensiasi menuju garis sel osteoblas melalui ekspresi faktor transkripsi RUNX2 dan Osterix. Selanjutnya, sel-sel tersebut berkembang menjadi osteoblas matur penghasil matriks yang dapat mengalami apoptosis, berubah menjadi sel pelapis tulang, ataupun berdiferensiasi menjadi osteosit. Sebagian osteoblas matur terperangkap di dalam osteoid yang belum termineralisasi dan selanjutnya bertransformasi

menjadi osteosit, yaitu sel tulang terminal yang berada di dalam jaringan tulang termineralisasi (Jung *et al.*, 2020) . Lihat pada **Gambar 2.7**



Gambar 2. 7 Osteoblastogenesis

(Jung *et al.*, 2020)

3. Osteosit

Osteosit adalah sel yang jumlahnya (90-95%), berasal dari osteoblas yang terjebak dalam matriks yang dihasilkannya (Bonewald, 2011). Osteosit kini diakui sebagai sel aktif yang mampu merespons berbagai rangsangan dan secara langsung terlibat dalam remodeling tulang, mekanotransduksi, dan interaksi komunikasi antarsel (Wasi and Lewis, 2025). Osteoblas yang telah matang menjadi osteosit akan masuk ke dalam matriks, osteosit menetap di dalam lakuna dan memperpanjang proyeksi sitoplasma melalui kanalikuli, membentuk sistem lakuna-kanalikuli, yang merupakan jaringan

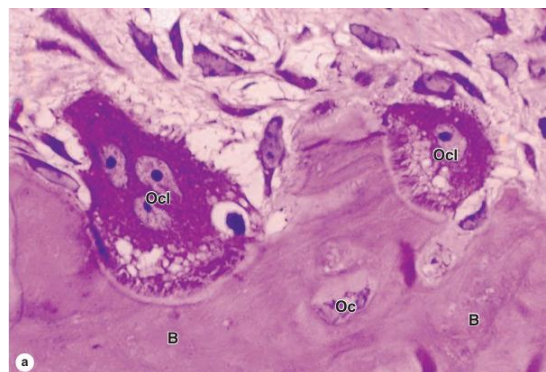
tiga dimensi yang kompleks yang menghubungkan osteosit satu sama lain serta dengan permukaan tulang, sumsum tulang, dan sistem vaskular (Marahleh *et al.*, 2025). dilihat pada **Gambar 2.8**



Gambar 2. 8 Osteosit Dalam Lakuna
(Mescher, 2023)

4. Osteoklas

Osteoklas adalah sel berukuran besar yang bersifat motil, multinukleus, dan bercabang, serta memiliki peranan penting dalam proses resorpsi matriks tulang selama pertumbuhan maupun remodeling tulang (Mescher, 2023). Lihat pada **Gambar 2.9**



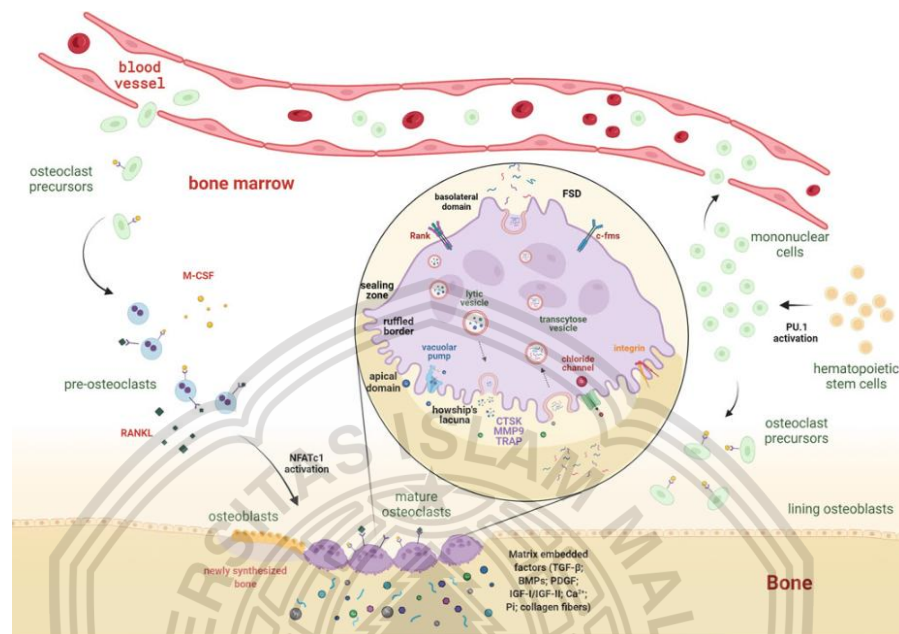
Gambar 2. 9 Morfologi Osteoklas

(Mescher, 2023)

Osteoklastogenesis dimulai dengan diferensiasi sel batang hematopoietik menjadi sel mononuklear setelah ekspresi PU.1, yang kemudian berkembang menjadi prekursor osteoklas melalui stimulasi M-CSF, bermigrasi ke permukaan tulang, dan berdiferensiasi menjadi osteoklas matur akibat sinyal M-CSF dan RANKL yang dilepaskan oleh sel stroma dan osteoblas melalui aktivasi c -Fms dan RANK, serta faktor transkripsi osteoklastogenik seperti NFATc1 (Russo *et al.*, 2022). Osteoklas yang matur menunjukkan polaritas apiko-basal yang khas dengan pembentukan *sealing zone* (zona penyegelan) yang didasarkan pada F-actin dan integrin $\alpha v \beta 3$, yang melekat kuat pada permukaan tulang dan mengelilingi *ruffled border* (Batas bergelombang), yaitu membran terlipat yang membatasi *Howship's lacuna* sebagai ruang resorpsi tertutup (Russo, 2022; Jiang, 2024). *Howship's lacuna* merupakan tempat yang dimana osteoklas mengeluarkan ion H^+ dan Cl^- untuk menciptakan lingkungan asam yang melarutkan komponen mineral tulang, sementara matriks organik dihancurkan oleh enzim lisosom seperti cathepsin K, MMP-9, dan TRAP (Jiang *et al.*, 2024).

Hasil dari pemecahan jaringan tulang oleh osteoklas, berupa ion anorganik dan molekul organik, kemudian masuk dalam vesikel transitosi dan diangkut ke domain basolateral, khususnya *Functional secretory domain*, untuk dilepaskan melalui eksositosis, bersamaan dengan pelepasan faktor pertumbuhan dan osteotropik seperti TGF- β ,

BMPs, PDGF, dan IGFs, yang berperan dalam regulasi remodeling tulang (Russo, 2022; Jiang, 2024). Mekanisme osteoklastogenesis bisa lihat pada **Gambar 2.10**



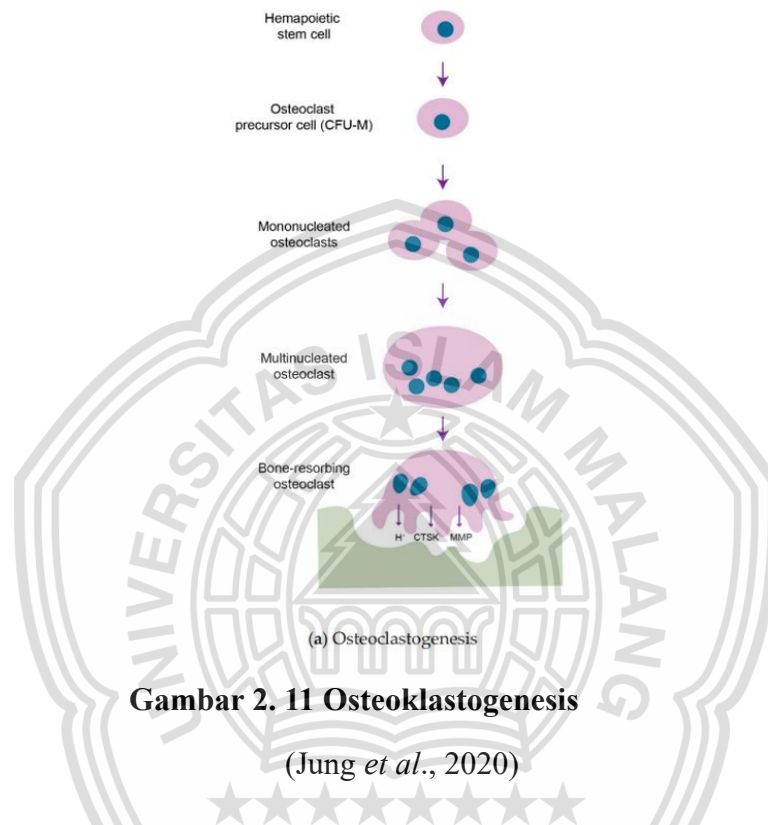
Gambar 2. 10 Osteoklastogenesis

(Russo *et al.*, 2022)

Osteoklastogenesis: Osteoklas merupakan makrofag khusus jaringan yang berasal dari sel punca hematopoietik. Di bawah pengaruh *Macrophage Colony-Stimulating Factor* (M-CSF), sel punca hematopoietik akan berdiferensiasi menjadi *Macrophage Colony-Forming Units* (CFU-M) yang berperan sebagai prekursor makrofag dan osteoklas. Selanjutnya, aktivasi jalur sinyal RANKL–RANK menstimulasi CFU-M untuk mengalami diferensiasi menjadi osteoklas mononukleat yang kemudian berfusi membentuk osteoklas multinukleat. Osteoklas multinukleat mencapai tahap maturasi penuh melalui interaksi langsung dengan osteoblas, kemudian melakukan resorpsi matriks tulang melalui sekresi asam (H^+), protease

seperti *Cathepsin K* (CTSK), dan *Matrix Metalloproteinases* (MMPs), setelah terbentuk kompartemen tertutup akibat adhesi erat antara permukaan tulang dan membran dasar osteoklas (Jung *et al.*, 2020). Dilihat pada

Gambar 2.11



Gambar 2. 11 Osteoklastogenesis

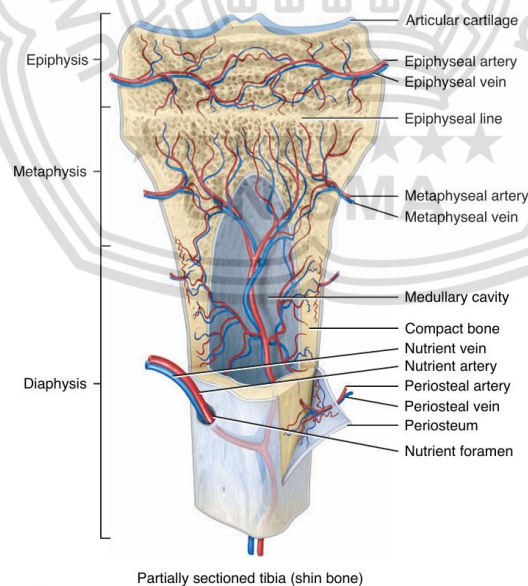
(Jung *et al.*, 2020)

2.3.3 Sistem Vaskularisasi dan Persarafan Tulang

A. Vaskularisasi pada tulang femur berasal dari 3 sumber utama :

1. Arteri Nutrisia femoralis, sebagai cabang dari arteri profunda femoris, masuk ke linea aspera pada sepertiga tengah diafisis femoralis dan bercabang menjadi arteri *intramedullary ascending* dan *descending* untuk menyuplai sumsum tulang dan dua pertiga bagian dalam korteks diafisis (Anand *et al.*, 2025).

2. Arteri Metaphyseal menyuplai metafisis proksimal dan distal melalui cabang-cabang *Medial Circumflex Femoral Arteries* (MCFA) dan *Lateral Circumflex Femoral Arteries* (LCFA), arteri genu descending, dan arteri perforasi dari arteri profunda femoralis, yang membentuk anastomosis retikuler yang kaya di metaphysis sebagai sumber penting suplai darah kolateral (Tzouma *et al.*, 2020)(Tzouma *et al.*, 2020).
3. Arteri periosteal femur menyuplai jaringan periosteum dan sepertiga luar korteks femur melalui cabang-cabang kecil dari arteri otot sekitarnya, termasuk otot vastus, serta dari arteri genicularis descending dan cabang-cabang metafisis yang membentuk lengkung longitudinal anterior, serta memainkan peran penting dalam menjaga aliran darah ke korteks luar, terutama ketika terjadi gangguan aliran darah intramedular (Chen *et al.*, 2021). Lihat pada **Gambar 2.12**



Gambar 2. 12 Suplai Darah Pada Tulang Panjang Dewasa

(Tortora and Derrickson, 2014)

B. Persarafan Tulang

Persarafan tulang femur berasal dari pleksus lumbosakral melalui kontribusi utama nervus femoralis, nervus obturatorius, dan nervus ischiadicus sebagai sumber inervasi tulang femur (Pun *et al.*, 2024). Serabut saraf aferen (simpatis) dan eferen (sensorik) memasuki jaringan tulang dengan mengikuti pembuluh darah utama melalui mekanisme yang dikenal sebagai *Neurovascular bundling* (Tao *et al.*, 2023). Periosteum memiliki kepadatan saraf sensorik yang tinggi dengan serabut saraf yang berperan dalam mendeteksi rangsangan nyeri yang disebabkan oleh peregangan, trauma, atau proses inflamasi. Serabut saraf yang bermielin dan tidak mielin berjalan sejajar dengan pembuluh darah *Haversian* untuk mengatur aliran darah lokal dan aktivitas metabolik tulang (Tao *et al.*, 2023). Sumsum tulang mengandung serabut saraf sensorik dan simpatik *post-ganglion* yang berperan dalam regulasi hematopoiesis, migrasi sel punca, dan proses remodeling tulang (Chen and Zhang, 2022).

C. Fungsi Neurotransmitter Pada Tulang

Serabut saraf sensorik melepaskan *Substance P* (SP) dan *Calcitonin Gene-Related Peptide* (CGRP) sebagai neuropeptida yang kadarnya meningkat saat kondisi inflamasi dan nyeri tulang. CGRP menunjukkan efek anabolik pada jaringan tulang dengan merangsang proliferasi osteoblas, sedangkan SP berperan dalam meningkatkan aktivitas resorpsi tulang. Serat saraf simpatis melepaskan *Neuropeptida Y* (NPY) dan norepinefrin yang secara umum berfungsi menghambat proses pembentukan tulang. Peningkatan aktivitas sistem saraf simpatis berkontribusi terhadap penurunan massa tulang sehingga menghubungkan stres kronis dengan perkembangan osteoporosis (Chen and Zhang, 2022). Serat kolinergik melepaskan asetilkolin yang diduga memberikan efek protektif terhadap

jaringan tulang, meskipun mekanisme regulasinya belum sepenuhnya dipahami dibandingkan dengan sistem saraf simpatis (Tao *et al.*, 2023).

2.3.4 Pembentukan dan Remodeling Tulang

A. Pembentukan Tulang

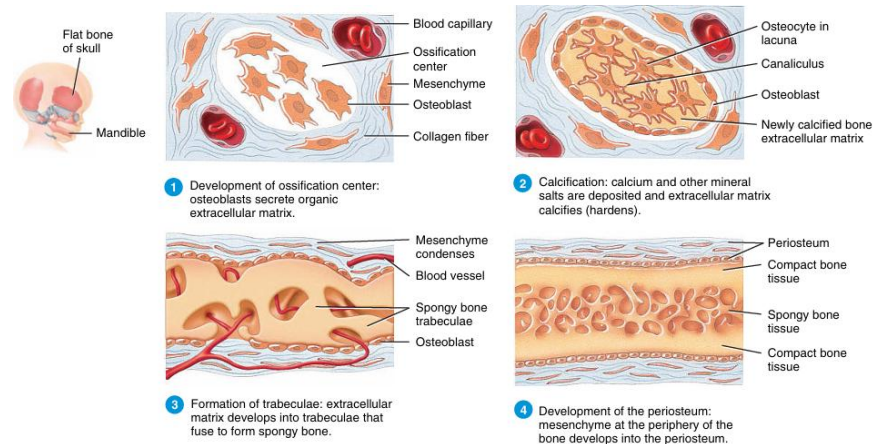
Ossifikasi atau osteogenesis merupakan proses pembentukan tulang yang mencakup pembentukan tulang primer pada fase embrio dan janin, pertumbuhan tulang sejak masa bayi hingga remaja sampai mencapai ukuran dewasa, remodeling tulang melalui pergantian jaringan tulang lama dengan jaringan tulang baru sepanjang kehidupan, serta proses perbaikan fraktur yang dapat berlangsung selama hidup individu (Tortora and Derrickson, 2014). Pembentukan tulang terjadi melalui dua mekanisme utama yang berbeda yaitu:

1. Osifikasi Intramembranosa

Osifikasi intramembranosa adalah jenis osifikasi terbatas yang digunakan untuk perkembangan tulang wajah yang berbentuk pipih serta sebagian besar tulang penyusun tengkorak, dan mandibula (López, 2024). Osifikasi intramembranosa merupakan proses pembentukan tulang yang terjadi langsung dari jaringan mesenkimal tanpa melalui tahap kartilago (Stetsiv *et al.*, 2024).

Proses osifikasi intramembran diawali oleh kondensasi sel mesenkimal embrionik yang selanjutnya mengalami diferensiasi menjadi osteoprogenitor dan selanjutnya menjadi osteoblas, membentuk pusat ossifikasi (*ossification center*) di dalam jaringan mesenkimal yang sangat banyak vaskularisasinya (Ikeda *et al.*, 2023). Osteoblas yang terbentuk

mulai menghasilkan matriks tulang yang disebut osteoid, yang terutama terdiri dari kolagen tipe I dan protein non-kolagen, sehingga membentuk kerangka awal jaringan tulang (López, 2024). Osteoid yang telah di sekresikan mengalami kalsifikasi melalui deposisi ion kalsium dan fosfat yang membentuk kristal hidroksiapatit, menyebabkan matriks mengeras dan beberapa osteoblas terjebak dalam lakuna serta berdiferensiasi menjadi osteosit yang berperan dalam mempertahankan jaringan tulang (Watanabe *et al.*, 2023). Proses mineralisasi yang berlanjut menghasilkan spikula tulang yang menyatu dan membentuk trabekula, menghasilkan jaringan tulang spongiosa atau (*Woven bone*) yang masih tidak teratur dan mengandung banyak pembuluh darah di ruang antar-trabekula (Stetsiv *et al.*, 2024). Mesenkim pada bagian perifer trabekula kemudian berdiferensiasi menjadi periosteum, sementara osteoblas pada permukaan luar tulang terus menghasilkan matriks untuk membentuk lapisan tulang kompak yang mengelilingi tulang spongiosa (Ikeda *et al.*, 2023). Ruang di antara trabekula kemudian berkembang menjadi sumsum tulang merah, yang berperan penting dalam hematopoiesis dan suplai nutrisi selama pertumbuhan dan pematangan tulang intramembran (López, 2024). Lihat pada **Gambar 2.13**



Gambar 2. 13 Mekanisme Osifikasi Intramembranosa

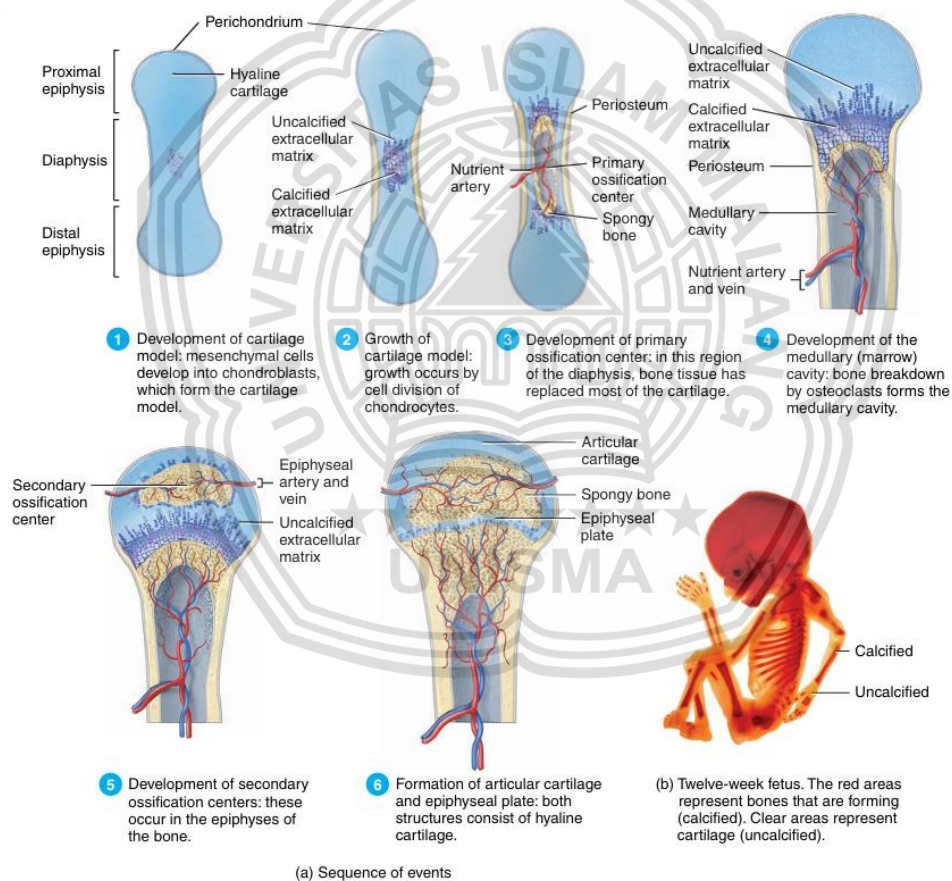
(Tortora and Derrickson, 2014)

2. Osifikasi Endokondral

Osifikasi endokondral adalah proses pembentukan tulang panjang yang menggantikan model kartilago hialin menjadi jaringan tulang matang (Breeland *et al.*, 2023). Osifikasi endokondral menghasilkan sebagian besar struktur kerangka aksial dan apendikular, termasuk badan vertebra dan tulang panjang, seperti femur dan tibia (López, 2024).

Proses osifikasi endokondral dimulai dengan sel mesenkim embrionik yang berdiferensiasi menjadi kondroblas dan membentuk model tulang rawan hialin. Kondroblas menghasilkan kondrosit yang mengalami proliferasi dan hipertrofi untuk memperpanjang model kartilago tulang (Ali *et al.*, 2024). Kondrosit hipertrofik menyebabkan kalsifikasi matriks kartilago yang menghambat difusi nutrisi dan memicu apoptosis sel. Pembuluh darah kemudian menginvasi daerah diafisis dan membawa sel osteoprogenitor ke pusat osifikasi primer (Breeland *et al.*, 2023). Sel osteoprogenitor tersebut kemudian mengalami diferensiasi menjadi osteoblas yang berperan dalam mensekresikan matriks tulang pada kartilago

yang telah mengalami kalsifikasi (López, 2024). Osteoklas kemudian membentuk rongga meduler melalui proses resorpsi tulang primer (Yahara *et al.*, 2022). Pusat osifikasi sekunder kemudian berkembang di daerah epifisis tulang setelah lahir (Breeland *et al.*, 2023). Kartilago yang tersisa membentuk kartilago artikular dan lempeng epifisis yang berfungsi dalam pertumbuhan panjang tulang (López, 2024). Lempeng epifisis akhirnya menutup dan digantikan oleh jaringan tulang matur pada akhir periode pertumbuhan (Breeland *et al.*, 2023). Lihat pada **Gambar 2.14**



Gambar 2. 14 Mekanisme Osifikasi Endokondral

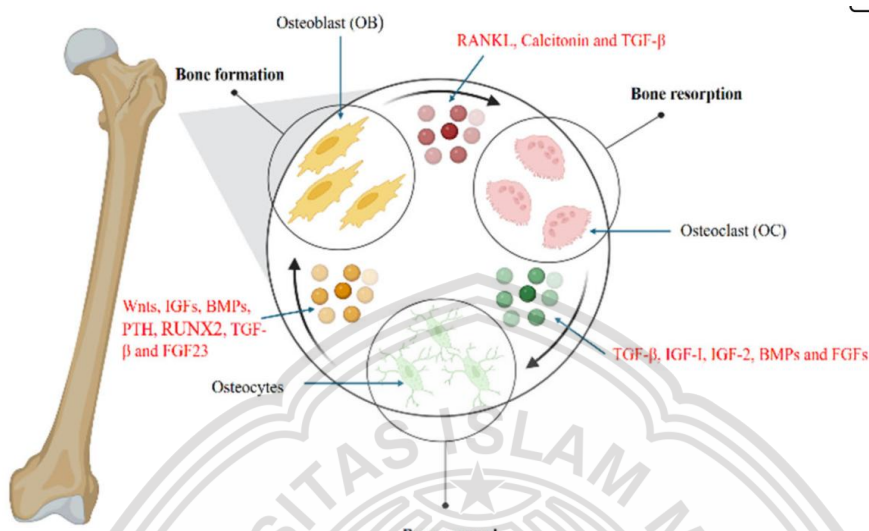
(Tortora and Derrickson, 2014)

B. Remodeling Tulang

Remodeling tulang merupakan proses fisiologis yang berlangsung secara terus-menerus melalui aktivitas resorpsi tulang lama oleh osteoklas dan pembentukan jaringan tulang baru oleh osteoblas untuk menjaga kekuatan dan integritas tulang . Proses ini menggantikan jaringan tulang yang rusak tanpa mengubah bentuk makroskopis tulang, tetapi secara terus-menerus memperbarui struktur mikroskopiknya (Bolamperti *et al.*, 2022). Remodeling tulang terjadi melalui unit fungsional yang disebut *Bone Multicellular Unit* (BMU) yang mengoordinasikan aktivitas osteoklas dan osteoblas secara teratur dan berurutan (El-masri *et al.*, 2024).

Siklus remodeling tulang dimulai dengan fase aktivasi yang merekrut prekursor osteoklas ke permukaan tulang melalui sinyal RANK–RANKL (El-Masri dkk., 2024). Osteoklas yang telah aktif berperan dalam proses resorpsi tulang melalui penghancuran matriks mineral dan matriks organik selama fase resorpsi (Yang *et al.*, 2025). Fase reversal melibatkan sel mononuklear yang membersihkan sisa matriks dan mempersiapkan permukaan tulang untuk pembentukan baru (El-Masri dkk., 2024). Osteoblas kemudian mengeluarkan osteoid dan memicu mineralisasi matriks untuk membentuk jaringan tulang baru pada fase pembentukan (Wu *et al.*, 2024). Osteosit bertindak sebagai sensor mekanik yang mendeteksi beban mekanik dan mengatur aktivitas osteoklas dan osteoblas melalui sinyal parakrin (Rowe *et al.*, 2023). Keseimbangan antara resorpsi dan pembentukan tulang menjaga homeostasis mineral, memperbaiki kerusakan mikro, dan memungkinkan adaptasi tulang terhadap beban mekanis (Bolamperti *et al.*, 2022). Gangguan keseimbangan remodeling tulang menyebabkan penurunan massa tulang dan peningkatan risiko patah tulang, seperti yang terlihat pada osteoporosis (El-

masri *et al.*, 2024). Hormon sistemik dan jalur molekuler seperti PTH, vitamin D, Wnt/ β -catenin, dan RANK/RANKL/OPG mengatur diferensiasi dan aktivitas sel tulang dalam proses remodeling (Mehreen *et al.*, 2025). Lihat pada **Gambar 2.15**



Gambar 2.15 Remodeling Tulang

(Mehreen *et al.*, 2025)

2.4 Menopause dan Perubahan Fisiologis

2.4.1 Prevalensi Menopause

Secara global, sekitar 1,2 milyar wanita di seluruh dunia saat ini berada dalam periode pasca-menopause, dan angka ini diperkirakan akan meningkat seiring dengan peningkatan usia wanita (Cauley, 2021). Berdasarkan pernyataan dari Kementerian Kesehatan Indonesia, jumlah wanita menopause di Indonesia pada tahun 2025 mencapai 60 juta (Flückiger *et al.*, 2025). Di Indonesia, jumlah wanita yang memasuki masa menopause terus meningkat seiring dengan pertambahan usia populasi, dengan prevalensi wanita pasca-menopause yang diperkirakan mencapai lebih dari 28 juta jiwa pada tahun 2020 (Bappenas, 2020).

2.4.2 Definisi dan Klasifikasi Menopause

Menopause merupakan suatu fase fisiologis pada wanita yang ditandai oleh berhentinya fungsi ovarium secara permanen disertai penurunan produksi hormon estrogen secara signifikan (Taulikar, 2022). Menurut definisi WHO, menopause secara klinis dikonfirmasi apabila seorang wanita mengalami amenore selama sedikitnya 12 bulan berturut-turut yang terjadi secara alami tanpa adanya penyebab patologis lain (WHO, 2020). Menopause alami umumnya terjadi pada usia rata-rata 51 tahun, dengan rentang usia antara 45 hingga 55 tahun (Soeprono *et al.*, 2020). Menopause dini merupakan kondisi menopause yang terjadi sebelum usia 45 tahun dan dialami oleh sekitar 5–10% wanita (Nurmainah *et al.*, 2021).

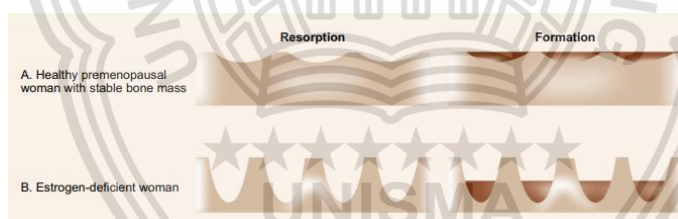
2.4.3 Komplikasi Jangka Panjang Menopause Pada Tulang

Osteoporosis merupakan salah satu komplikasi paling serius dari menopause yang menyebabkan peningkatan risiko patah tulang (Kanis *et al.*, 2021). Penurunan *Bone Mineral Density* (BMD) terjadi dengan kecepatan 1-3% per tahun pada tahun-tahun pertama pasca-menopause (Riggs *et al.*, 2002). Patah tulang vertebra, femur proksimal, dan radius distal merupakan lokasi patah tulang yang paling sering terjadi pada wanita osteoporosis (Borgström *et al.*, 2020). Patah tulang vertebra sering kali tidak terdiagnosis karena dapat terjadi secara spontan atau akibat trauma ringan (Gallagher *et al.*, 2020). Patah tulang femur proksimal merupakan salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas pada lansia, dengan tingkat kematian dalam tahun pertama setelah patah mencapai 20-30% (Veronese *et al.*, 2022).

2. 5 Hipoestrogen Induced Osteoporosis

2.5.1 Prevalensi Hipoestrogen Menyebabkan Osteoporosis

Data *International Osteoporosis Foundation* (IOF) menunjukkan bahwa lebih dari 200 juta orang di seluruh dunia menderita osteoporosis, dengan prevalensi tertinggi pada wanita pasca-menopause (Compston *et al.*, 2019). Populasi wanita pascamenopause di dunia pada tahun 2021 terus meningkat saat usia lebih dari 50 tahun mencapai 26%, dan ini terjadi akibat estrogen menurun yang menyebabkan hilangnya kepadatan tulang dan osteoporosis (WHO, 2024). Penelitian lain telah menunjukkan prevalensi di India yaitu osteoporosis yang disebabkan oleh penurunan estrogen atau bisa disebut pascamenopause sebanyak 37,5% pada wanita (Imran *et al.*, 2022). Pada tahun 2050, perkiraan jumlah penduduk Indonesia sebanyak 71 juta orang yang akan mengalami osteoporosis pada usia lebih dari 60 tahun (Kemenkes, 2023). Penyebab utama peningkatan resiko wanita pascamenopause yang mengalami osteoporosis primer yaitu akibat defisiensi estrogen (Rani *et al.*, 2023). lihat pada **Gambar 2.16** berikut.



Gambar 2. 16 Perbandingan Proses Remodeling Tulang Sehat dan Tulang Yang Kekurangan Estrogen

(Rani *et al.*, 2023).

2.5.2 Obat Anti Osteoporosis

1. *Hormone Replacement Therapy* (HRT) / Terapi pengganti hormon

HRT merupakan pengobatan yang paling efektif untuk mencegah dan mengobati osteoporosis pascamenopause (Jørgensen *et al.*, 2021). HRT dapat mengembalikan keseimbangan remodeling tulang dan mencegah

penurunan BMD pada wanita pasca-menopause dengan meningkatkan kepadatan mineral tulang hingga 5-10% (Jørgensen *et al.*, 2021). HRT tersedia dalam berbagai bentuk termasuk tablet oral, *patch transdermal*, gel, dan implan (Stuenkel *et al.*, 2015). Estrogen umum yang digunakan meliputi estradiol, *conjugated equine estrogen*, dan estriol (Manson *et al.*, 2017).

HRT memiliki risiko efek samping yang signifikan dan harus dipertimbangkan dengan hati-hati (Manson *et al.*, 2017). Risiko kanker payudara meningkat 24% pada wanita yang menggunakan HRT kombinasi estrogen-progestin selama 5 tahun (Manson *et al.*, 2017). Penyakit kardiovaskular seperti stroke dan tromboemboli vena juga meningkat pada pengguna HRT (Manson *et al.*, 2017). HRT juga dapat menyebabkan nyeri payudara, pendarahan vagina, dan pembengkakan kaki (Stuenkel *et al.*, 2015). Penggunaan HRT harus dipertimbangkan berdasarkan risiko dan manfaat individu dengan durasi terapi yang sesingkat mungkin (Stuenkel *et al.*, 2015).

2. Bifosfonat

Bifosfonat seperti alendronate, risedronate, dan ibandronate adalah obat anti-osteoporosis yang paling umum digunakan di seluruh dunia (Cauley *et al.*, 2021). Bifosfonat bekerja dengan cara menghambat aktivitas osteoklas dan meningkatkan apoptosis osteoklas melalui mekanisme penghambatan enzim farnesil pirofosfat sintase (Rachner *et al.*, 2021). Bifosfonat dapat mengurangi risiko patah tulang vertebra hingga 50% dan patah tulang femur hingga 40% (Kanis *et al.*, 2021). Bifosfonat

tersedia dalam bentuk oral (mingguan atau bulanan) dan intravena (setiap 6-12 bulan) (Cauley *et al.*, 2021).

Efek samping bisfosfonat termasuk gangguan gastrointestinal seperti nyeri lambung, dispepsia, dan esofagitis (Cauley *et al.*, 2021). *Osteonecrosis of the Jaw* (ONJ) terjadi pada 0,01-0,1% pengguna bisfosfonat oral dan lebih sering pada pengguna intravena (Cauley *et al.*, 2021). Fraktur atipikal femur adalah komplikasi langka yang terjadi pada pengguna jangka panjang (>5 tahun) (Cauley *et al.*, 2021). Bisfosfonat juga dapat menyebabkan hipokalsemia dan mialgia (Rachner *et al.*, 2021).

3. Denosumab

Denosumab adalah antibodi monoklonal yang menghambat RANKL, sehingga mengurangi diferensiasi dan aktivitas osteoklas (Hofbauer *et al.*, 2022). Denosumab dapat meningkatkan BMD dan mengurangi risiko patah tulang vertebra hingga 68% dan patah tulang non-vertebra hingga 20% (Rachner *et al.*, 2021). Denosumab diberikan secara subkutan setiap 6 bulan dengan dosis 60 mg. Denosumab tidak memerlukan penyesuaian dosis pada pasien dengan gangguan ginjal (Hofbauer *et al.*, 2022).

Efek samping denosumab termasuk hipokalsemia yang dapat terjadi pada 10-20% pasien. Peningkatan risiko infeksi seperti infeksi kulit dan saluran pernapasan juga dilaporkan pada pengguna denosumab. Osteonekrosis rahang juga dapat terjadi pada pengguna denosumab dengan kejadian yang lebih rendah dibandingkan bisfosfonat. Penghentian

denosumab yang tiba-tiba dapat menyebabkan patah tulang belakang kembali (Hofbauer *et al.*, 2022).

4. Romosozumab

Romosozumab adalah antibodi monoklonal yang menghambat sclerostin, sehingga meningkatkan jalur Wnt/ β -catenin dan stimulasi pembentukan tulang. Romosozumab diberikan secara subkutan setiap bulan dengan dosis 210 mg. Romosozumab dapat meningkatkan BMD tulang pinggul hingga 13% dan tulang vertebra hingga 13,3% dalam 12 bulan. Romosozumab juga dapat mengurangi risiko patah tulang vertebra hingga 73% dan non-vertebra hingga 38% (Gallagher *et al.*, 2020).

Efek samping romosozumab termasuk sakit kepala, artralgia, dan reaksi di tempat suntikan. Ada peringatan tentang peningkatan risiko kejadian kardiovaskular seperti infark miokard dan stroke. Romosozumab dikontraindikasikan pada pasien dengan riwayat infark miokard atau stroke dalam 1 tahun terakhir (Gallagher *et al.*, 2020).

2.5.3 Herbal Anti Osteoporosis

Beberapa herbal Indonesia yang telah diteliti untuk pengobatan osteoporosis termasuk tumbuhan kelor (*Moringa oleifera*), daun sirsak (*Annona muricata*), daun kelor (*Moringa oleifera*), dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Tumbuhan kelor memiliki berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, vitamin C, dan kalsium yang dapat mendukung kesehatan tulang. Penelitian oleh Kusumawardani *et al.* (2020) menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor dapat meningkatkan kepadatan mineral tulang pada tikus ovariektomi. Temulawak mengandung kurkuminoid yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang dapat melindungi tulang dari

kerusakan (Kusumawardani *et al.*, 2020). *T. procumbens* (gletang) merupakan salah satu herbal anti osteoporosis (Mistry *et al.*, 2022). Tanaman ini telah digunakan secara tradisional dalam pengobatan untuk berbagai kondisi, termasuk luka, radang, dan gangguan metabolisme (Gautam *et al.*, 2021). Penelitian fitokimia menunjukkan bahwa *T. procumbens* mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid (quercetin, kaempferol, luteolin), saponin, tanin, dan steroid yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi (Mistry *et al.*, 2022). Senyawa-senyawa ini diketahui dapat memodulasi jalur signaling yang terlibat dalam metabolisme tulang, termasuk jalur RANKL/OPG dan Wnt/ β -catenin (Cao *et al.*, 2023).

2.6 Tanaman *T. procumbens*

Tanaman *T. procumbens* termasuk dalam famili Asteraceae dikenal dengan berbagai nama lokal di Indonesia seperti gletang, gleteng, dan glethok, yang umumnya tumbuh liar di pinggir jalan dan sawah (Hartati *et al.*, 2019; Sureka *et al.*, 2020). Dalam internasional, tanaman ini lebih sering disebut sebagai *coatbuttons* atau *Mexican fleebane* karena bentuk bunganya yang menyerupai kancing baju dan asal geografisnya (Mistry *et al.*, 2022; Gautam *et al.*, 2021). *T. procumbens* ini telah tersebar luas di wilayah tropis dan subtropis, serta kegunaan yang beragam dalam pengobatan tradisional untuk berbagai kondisi penyakit (Gautam *et al.*, 2021).

Dosis ekstrak *T. procumbens* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 250, 500, dan 750 mg/kg berat badan, karena penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa ekstrak *T. procumbens* menunjukkan aktivitas biologis pada hewan percobaan pada berbagai tingkat dosis, termasuk 250 dan 500 mg/kg berat badan

pada model artritis tikus (Petchi *et al.*, 2013). Dalam penelitian Debeturu, ekstrak *Tridax procumbens* diberikan pada tikus dengan dosis 250, 500, dan 750 mg/kg berat badan sebagai analgesik, dan hasil terbaik diperoleh pada dosis 500 mg/kg berat badan, karena dosis tersebut menunjukkan efek analgesik yang paling optimal dibandingkan dengan dosis lainnya (Debeturu *et al.*, 2022). Senyawa flavonoid *T. procumbens* telah terbukti meningkatkan diferensiasi osteoblas dan pembentukan tulang secara *dose-dependent*, sehingga pemilihan dosis bertingkat diperlukan untuk melihat efek respon dosis terhadap jumlah osteoblas dan osteoklas. Penelitian Mamun juga menunjukkan bahwa flavonoid dalam *T. procumbens* dapat menghambat diferensiasi osteoklas dan aktivitas resorpsi tulang, yang mengindikasikan bahwa ekstrak ini memiliki efek perlindungan terhadap tulang pasca ovariektomi (Mamun *et al.*, 2019). Dosis 750 mg/kg berat badan dipilih sebagai dosis tinggi untuk menilai efek maksimum, namun dosis ini masih lebih wajar dibandingkan dengan 1000 mg/kg berat badan, karena dalam beberapa penelitian herbal, dosis yang terlalu tinggi berpotensi menyebabkan perubahan pada parameter biologis atau efek toksik tertentu (Anjum *et al.*, 2024).

2.6.1 Taksonomi dan morfologi *T. Procumbens*

A. Taksonomi *Tridax procumbens* (Jangid *et al.*, 2025):

- Kingdom: *Plantae*
- Subkingdom: *Tracheobionta*
- Superdivisi: *Spermatophyta*
- Divisi: *Magnoliophyta*
- Kelas: *Magnoliopsida*
- Subkelas: *Asteridae*

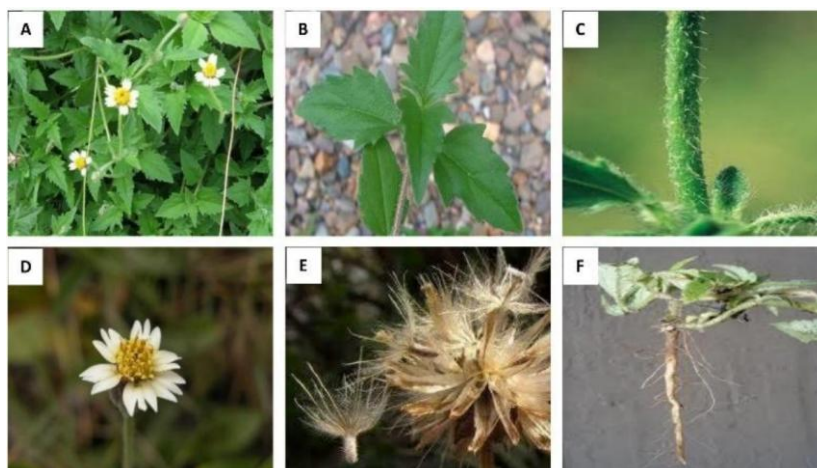
- Ordo: *Asterales*
- Famili: *Asteraceae*
- Genus: *Tridax*
- Spesies: *procumbens*

B. Morfologi *T. procumbens* :

- T. procumbens* merupakan herba tahunan yang tumbuh merata atau menjalar dengan panjang hingga 30-70 cm (Devi *et al.*, 2021). Ditunjukkan pada **Gambar 2.17 A**
- Daun *T. procumbens* memiliki ujung meruncing dengan tepi bergerigi, sebagaimana ditunjukkan pada **Gambar 2.17 B**. Daun bersifat tunggal, tersusun berhadapan, dan memiliki panjang sekitar 1–2 cm. Daun berwarna hijau tua, lunak, dan tebal. Helaian daun berbentuk oval lebar dengan ukuran berkisar antara 2–6 cm panjang dan 2–4 cm lebar. Daun bertangkai pendek serta permukaan atas dan bawahnya dilapisi oleh rambut-rambut halus (Ashvini *et al.*, 2024).
- Batang *T. procumbens* berbentuk silindris dan dilapisi oleh rambut-rambut kasar serta kaku, termasuk struktur multiseluler dengan tuberkulasi yang jelas, yang mencerminkan sistem transportasi jaringan yang berkembang dengan baik **Gambar 2.17 C**. Batang tumbuh ke arah atas dengan tinggi sekitar 30–50 cm, bercabang, dan memiliki kerapatan rambut yang relatif jarang. Pada beberapa nodus, batang mampu membentuk akar, sehingga mendukung kemampuan tanaman untuk menyebar secara vegetatif. Secara umum, batang bersifat ramping dan lentur, dengan pola pertumbuhan menjalar atau merayap yang memungkinkan tanaman membentuk

penutupan tanah yang rapat menyerupai hamparan seiring pertumbuhannya di permukaan tanah (Nikam *et al.*, 2024).

- d. Bunga *T. procumbens* berupa bunga majemuk tunggal (capitulum) yang terletak di terminal pada ujung tangkai bunga yang ramping dan permukaannya halus. Setiap kapitulium berdiameter sekitar 1–2 cm dan tersusun atas dua tipe bunga, yaitu bunga tepi (*ray florets*) dan bunga cakram (*disc florets*). Bunga cakram berada di bagian tengah, berwarna kuning, berbentuk tabung, serta bersifat biseksual, sedangkan bunga tepi sekitarnya, berwarna putih, berbentuk pita, dan berfungsi sebagai bunga betina **Gambar 2.17 D** (Ashvini *et al.*, 2024).
- e. Buah dan biji *T. procumbens* menghasilkan buah berbentuk memanjang dan beralur yang dikenal sebagai achene, dengan permukaan yang dilapisi rambut-rambut halus. Pada ujung achene terdapat pappus (seperti bulu) sepanjang kurang lebih 2–3 mm yang tersusun atas rambut putih lembut, yang berperan penting dalam membantu penyebaran biji melalui angin **Gambar 2.17 E**. Adaptasi morfologis ini memungkinkan biji disebarkan secara luas dan meningkatkan kemampuan tanaman untuk bertumbuh di tempat baru (Shabana *et al.*, 2020).
- f. Akar *T. Procumbens* sebagai tanaman dengan pertumbuhan menjalar, *T. procumbens* memiliki sistem perakaran halus yang memancarkan lapisan tanah bagian atas. Perakaran ini berfungsi untuk menopang stabilitas tanaman sekaligus memungkinkan penyerapan udara dan unsur hara secara efisien dari tanah di sekitarnya (Ashvini *et al.*, 2024). Ditunjukkan pada **Gambar 2.17 F**



Gambar 2. 17 Morfologi *T. procumbens*. A - Seluruh Tanaman, B - Daun, C - Batang, D - Bunga, E - Biji, F - Akar

(Jangid *et al.*, 2025)

2.6.2 Distribusi dan habitat

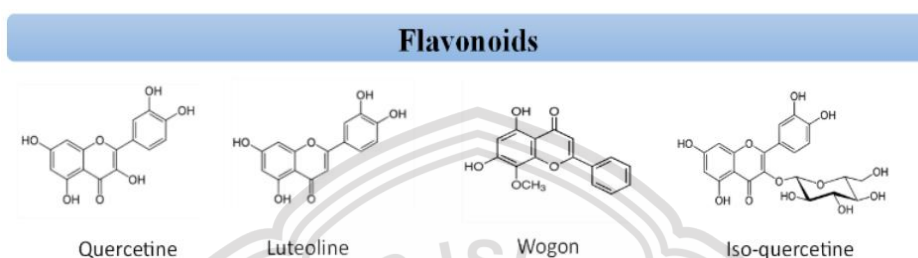
T. procumbens merupakan tanaman asli daerah tropis Amerika Tengah dan Selatan, namun kini telah tersebar luas dan menjadi tanaman naturalisasi di banyak daerah tropis dan subtropis di seluruh dunia, termasuk Asia, Afrika, dan Australia (Ingole *et al.*, 2022). Tanaman *T. procumbens* sangat adaptif dan dapat tumbuh subur di berbagai kondisi lingkungan, seperti di tepi jalan, lapangan terbuka, kebun, sawah, lereng bukit, dan daerah berbatu dengan ketinggian hingga 1.500 mdpl (Kumar *et al.*, 2020). Tumbuhan ini memiliki preferensi terhadap lingkungan terbuka dengan paparan sinar matahari penuh serta mampu tumbuh pada berbagai kondisi tanah, termasuk tanah dengan tingkat kesuburan yang rendah (Pandey & Tripathi, 2020).

2.6.3 Senyawa aktif dan efek farmakologis *T. procumbens*

T. procumbens kaya akan senyawa fitokimia bioaktif yang terkandung di seluruh bagian tanaman (daun, batang, bunga, dan akar), dengan daun sebagai

bagian yang paling banyak diteliti (Ahmad *et al.*, 2022). Senyawa fitokimia utama dari *T. procumbens* meliputi (D'arrigo *et al.*, 2021):

1. **Flavonoid:** Luteolin, quercetin, iso-quercetin, wogon, dan turunannya. Flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antibakteri yang kuat. Lihat **Gambar 2.18**

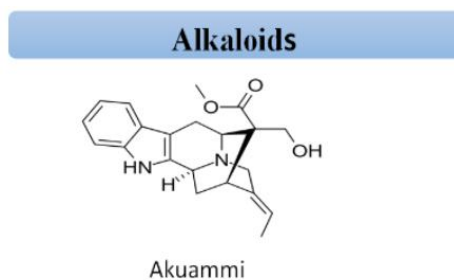


Gambar 2. 18 Senyawa Fitokimia Flavonoid

(Jangid *et al.*, 2025)

Quercetin merupakan flavonoid yang paling banyak ditemukan dalam *T. procumbens* dan telah diteliti secara ekstensif untuk efeknya pada metabolisme tulang (Cao *et al.*, 2023). Quercetin dan kaempferol dalam *T. procumbens* telah terbukti memiliki afinitas yang cukup tinggi terhadap reseptor estrogen alpha ($ER\alpha$) dan beta ($ER\beta$) (Rondanelli *et al.*, 2021). Quercetin bekerja dengan cara meningkatkan diferensiasi dan aktivitas osteoblas melalui aktivasi jalur Wnt/ β -catenin dan BMP-2/Smad. Penelitian *in vitro* ini telah menunjukkan bahwa quercetin mampu meningkatkan ekspresi gen osteoblas marker seperti Runx2, osteocalcin, dan *Alkaline Phosphatase* (ALP) pada sel osteoblas. Quercetin juga menghambat diferensiasi osteoklas dengan menurunkan ekspresi RANKL dan meningkatkan produksi OPG (Cao *et al.*, 2023).

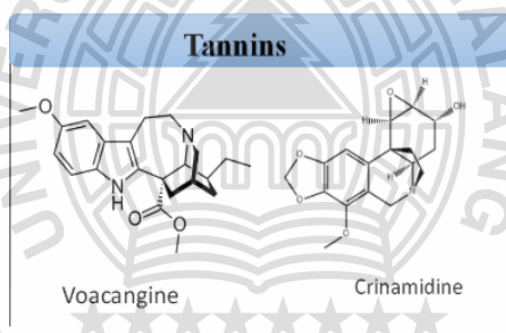
2. **Alkaloid:** Senyawa alkaloid seperti Akuammi juga telah diisolasi dari tanaman ini . Lihat **Gambar 2.19**



Gambar 2. 19 Senyawa Fitokimia Alkaloid

(Jangid *et al.*, 2025)

3. **Tanin:** Senyawa utamanya Voacangine, Crinadine, yang memiliki sifat astringent dan antioksidan. Lihat **Gambar 2.20**

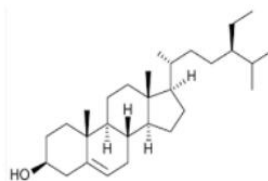


Gambar 2. 20 Senyawa Fitokimia Tanin

(Jangid *et al.*, 2025)

4. **Saponin:** Senyawa yang memiliki aktivitas hemolitik dan antimikroba. Lihat **Gambar 2.21**

Saponins



Sitosterol

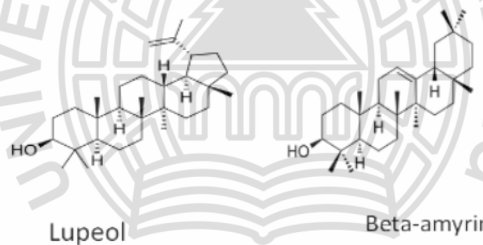
Gambar 2. 21 Senyawa Fitokimia Saponin

(Jangid *et al.*, 2025)

5. **Steroid dan Triterpenoid:** Seperti lupeol dan Beta-amyrin, yang dilaporkan memiliki aktivitas anti-inflamasi (Kumar and Pandey, 2013).

Lihat **Gambar 2.22**

Terpenoids



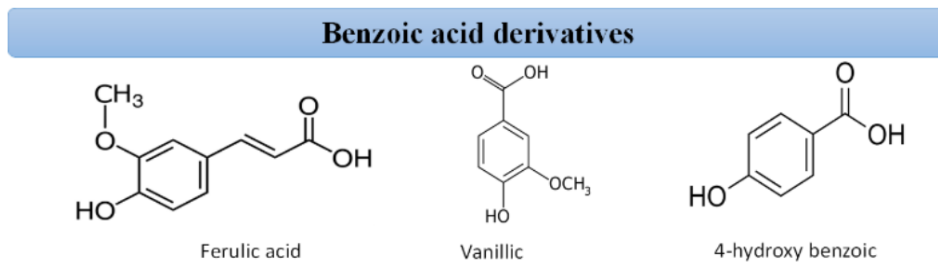
Lupeol

Beta-amyrin

Gambar 2. 22 Senyawa Fitokimia Terpenoid

(Jangid *et al.*, 2025)

6. **Turunan Asam Benzoat :** Seperti Ferulic acid, Vanillic, 4-hydroxy benzoic. Dapat di pakai sebagai Antimikrobia spektrum luas, Antioksidan melalui chelation logam, Antiinflamasi dengan inhibisi COX. Lihat **Gambar 2.23**

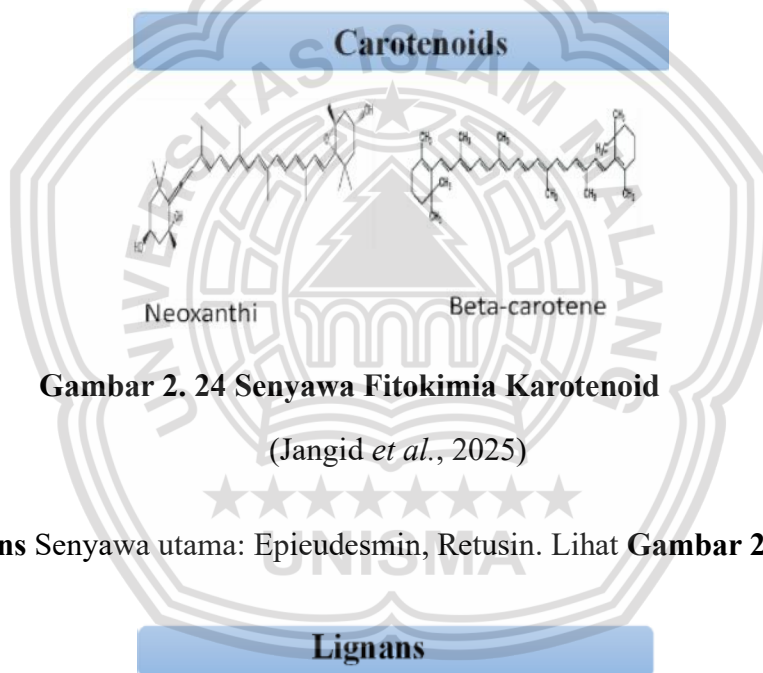


Gambar 2. 23 Senyawa Fitokimia Turunan Asam Benzoat

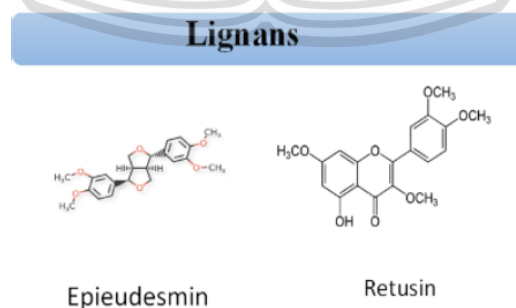
(Jangid *et al.*, 2025)

7. **Karotenoid** : Senyawa utama: β -karoten, Neoxanthi, zeaxanthin. Lihat

Gambar 2.24



8. **Lignans** Senyawa utama: Epieudesmin, Retusin. Lihat **Gambar 2.25**



Gambar 2. 25 Senyawa Fitokimia Lignans

(Jangid *et al.*, 2025)

Secara tradisional, *T. procumbens* telah digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit, seperti luka, gangguan pencernaan, gangguan pernapasan, dan gangguan hati (Devi *et al.*, 2021). Efek farmakologis yang telah didukung oleh penelitian ilmiah modern antara lain:

1. **Aktivitas Penyembuhan Luka:** Ekstrak *T. procumbens* daunnya telah terbukti mempercepat penutupan luka pada model hewan coba melalui mekanisme anti-inflamasi, proliferasi fibroblast, dan sintesis kolagen (Bhagat *et al.*, 2021).
2. **Aktivitas Antioksidan:** Kandungan flavonoid dan polifenolnya berperan sebagai pendonor elektron untuk menetralkan radikal bebas, mengurangi stres oksidatif (Ahmad *et al.*, 2022).
3. **Aktivitas Anti-inflamasi:** Ekstrak tanaman ini dapat menghambat produksi mediator inflamasi seperti prostaglandin dan sitokin (TNF- α , IL-6) (Kumar *et al.*, 2020).
4. **Aktivitas Antimikroba:** Ekstraknya menunjukkan efek penghambatan terhadap berbagai bakteri dan jamur (Pandey & Tripathi, 2020).
5. **Aktivitas Imunomodulator:** Dilaporkan dapat memodulasi respon sistem imun (Devi *et al.*, 2021).

2.6.4 Mekanisme kerja senyawa aktif dalam *T. procumbens* terhadap osteoblas dan osteoklas

Penelitian tentang efek *T. procumbens* secara langsung pada sel osteoblas dan osteoklas masih sangat terbatas dan merupakan area yang sedang berkembang.

Namun berdasarkan profil fitokimianya yang kaya akan flavonoid (seperti luteolin dan apigenin) yang telah banyak dipelajari efeknya pada tulang, mekanisme kerjanya dapat dihipotesiskan sebagai berikut:

1. Efek Senyawa Aktif *T. procumbens* pada Osteoklas (Penghambatan Resorpsi):

- a. Flavonoid seperti luteolin dapat menghambat diferensiasi dan pembentukan osteoklas dengan menekan ekspresi *Nuclear Factor of Activated T-cells cytoplasmic 1* (NFATc1), yang merupakan protein kunci atau *Master Transcription Factor* (MTF) untuk osteoklasogenesis (Bhagat *et al.*, 2021).
- b. Senyawa aktif dalam *T. procumbens* dapat memodulasi jalur RANKL/RANK/OPG yang berpotensi menurunkan rasio RANKL/OPG, sehingga menghambat aktivasi osteoklas (Ahmad *et al.*, 2022).
- c. Aktivitas anti-inflamasinya dapat menekan produksi sitokin pro-osteoklastogenik seperti TNF- α dan IL-6, yang merupakan stimulator poten pembentukan osteoklas (Kumar *et al.*, 2020).

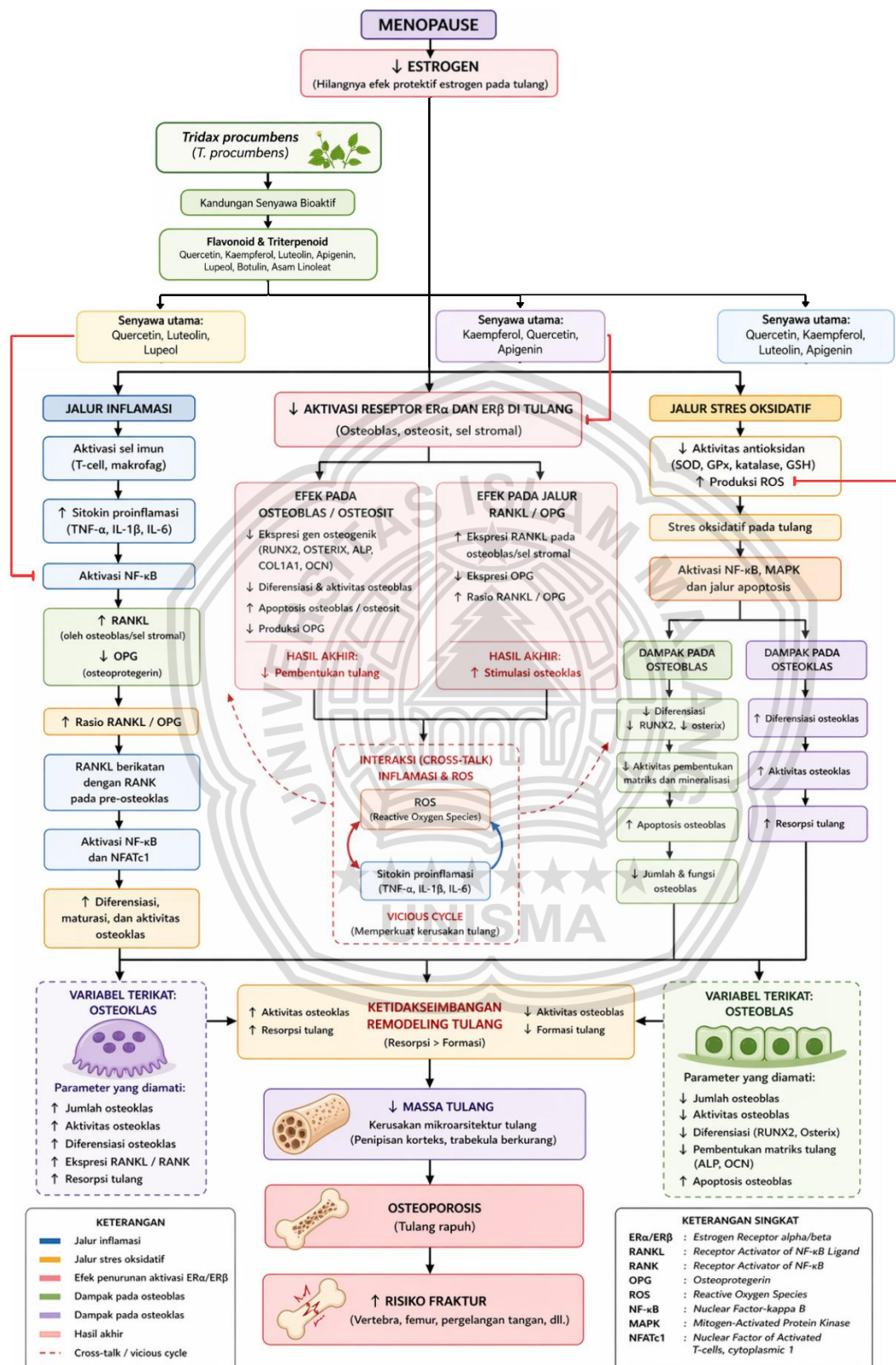
2. Efek Senyawa Aktif *T. procumbens* Pada Osteoblas (Stimulasi Pembentukan):

- a. Flavonoid dapat merangsang proliferasi, diferensiasi, dan mineralisasi osteoblas sehingga dapat mengaktivasi jalur pensinyalan yang pro-osteogenik, seperti jalur Wnt/ β -catenin dan BMP (Bone Morphogenetic Protein) (Pandey & Tripathi, 2020).

- b. Efek antioksidannya melindungi osteoblas dan osteosit dari apoptosis yang diinduksi oleh stres oksidatif, sehingga mendukung fungsi dan kelangsungan hidup sel-sel pembentuk tulang (Devi *et al.*, 2021).
- c. Beberapa senyawa dapat meningkatkan ekspresi penanda osteoblas seperti alkalinephosphatase (ALP), osteocalcin, dan Runx2 (Bhagat *et al.*, 2021)

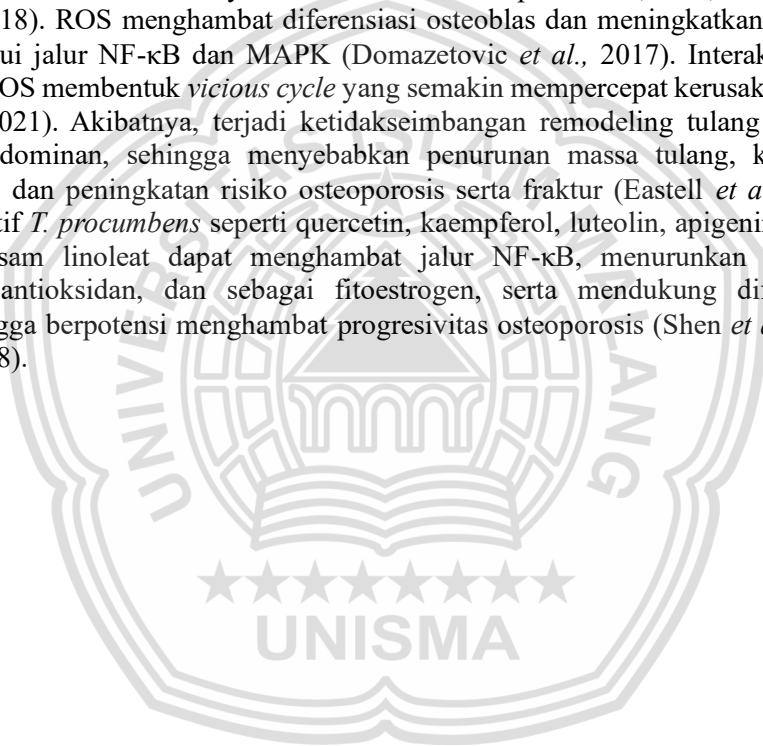


2.7 Kerangka Teori



Gambar 2. 26 Kerangka Teori

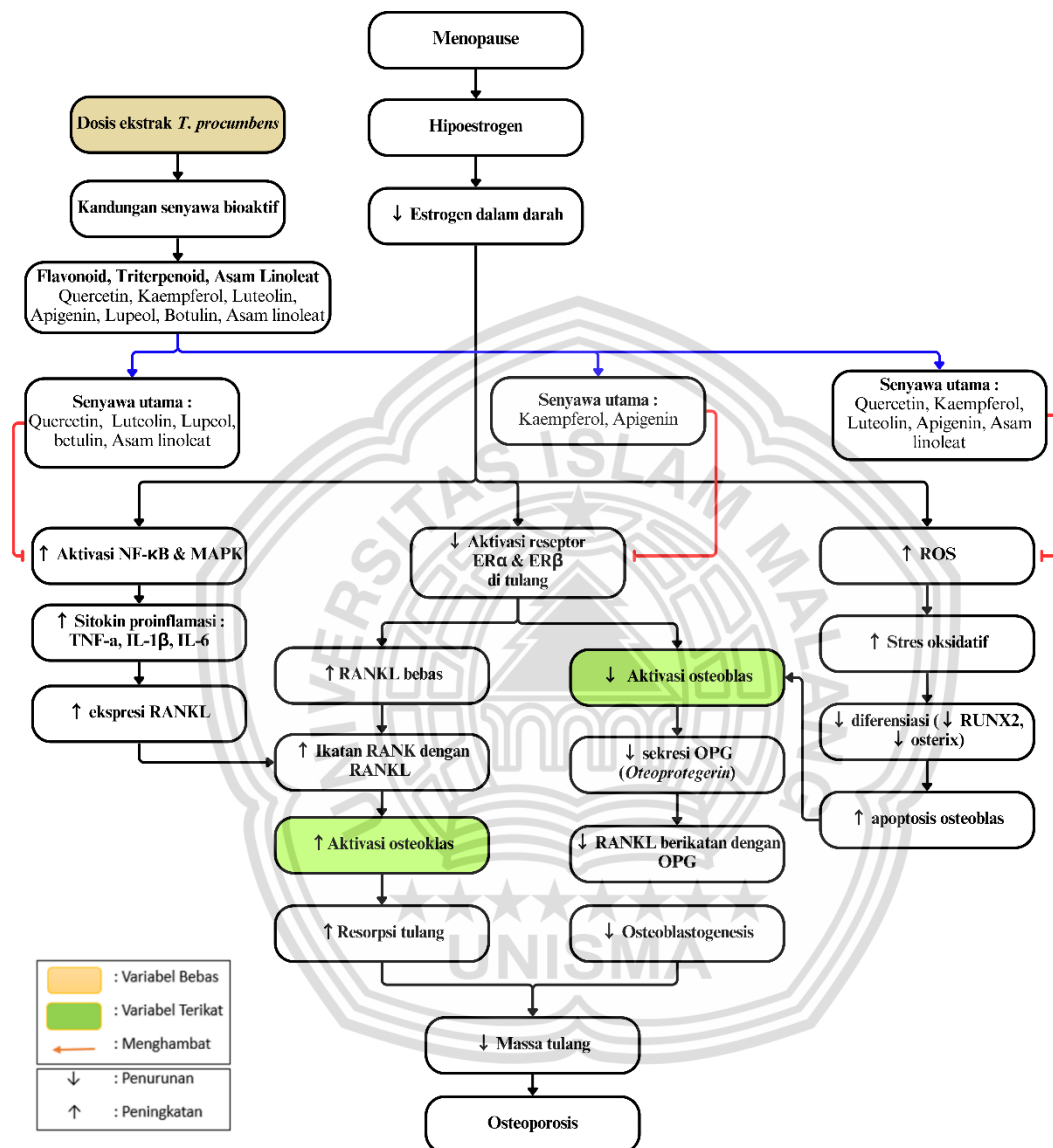
Keterangan: Menopause menyebabkan penurunan kadar estrogen akibat berhentinya fungsi ovarium, dan menyebabkan hilangnya perlindungan estrogen terhadap tulang (Compston *et al.*, 2019). Penurunan estrogen menyebabkan menurunnya aktivasi reseptor estrogen α (ER α) dan β (ER β) di tulang yang memicu berkurangnya aktivitas osteoblas dan sekresi *Osteoprotegerin* (OPG), sehingga terjadi peningkatan RANKL bebas yang berikatan dengan reseptor RANK osteoklas sehingga meningkatkan aktivasi osteoklas dan resorpsi tulang, yang kemudian menurunkan massa tulang (Sherwood, 2016). Penurunan estrogen juga mempengaruhi aktivasi sistem imun yang meningkatkan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 yang memperkuat osteoklastogenesis melalui aktivasi NF- κ B dan peningkatan RANKL (Srivastava *et al.*, 2022). TNF- α juga menghambat diferensiasi osteoblas sehingga mengganggu proses remodeling tulang (Weitzmann & Pacifici, 2017). Defisiensi estrogen meningkatkan stres oksidatif dengan meningkatnya ROS dan menurunnya sistem antioksidan seperti SOD, GPx, dan katalase (Manolagas, 2018). ROS menghambat diferensiasi osteoblas dan meningkatkan aktivitas osteoklas melalui jalur NF- κ B dan MAPK (Domazetovic *et al.*, 2017). Interaksi antara inflamasi dan ROS membentuk *vicious cycle* yang semakin mempercepat kerusakan tulang (Yang *et al.*, 2021). Akibatnya, terjadi ketidakseimbangan remodeling tulang di mana resorpsi lebih dominan, sehingga menyebabkan penurunan massa tulang, kerusakan mikroarsitektur, dan peningkatan risiko osteoporosis serta fraktur (Eastell *et al.*, 2016). Senyawa bioaktif *T. procumbens* seperti quercetin, kaempferol, luteolin, apigenin, lupeol, botulin, dan asam linoleat dapat menghambat jalur NF- κ B, menurunkan RANKL, meningkatkan antioksidan, dan sebagai fitoestrogen, serta mendukung diferensiasi osteoblas sehingga berpotensi menghambat progresivitas osteoporosis (Shen *et al.*, 2021; Xiao *et al.*, 2018).



BAB III

KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Keterangan: Menopause merupakan kondisi hipoestrogen akibat penurunan fungsi ovarium yang menyebabkan penurunan kadar estrogen dan hilangnya efek protektif terhadap tulang (Zhang *et al.*, 2024). Penurunan estrogen menyebabkan berkurangnya aktivasi reseptor estrogen (ERα dan ERβ) pada tulang sehingga diferensiasi osteoblas menurun dan apoptosis osteoblas meningkat (Zhou *et al.*, 2023). Hipoestrogen menurunkan produksi osteoprotegerin (OPG) sehingga meningkatkan RANKL yang kemudian mengaktifkan reseptor RANK pada pre-osteoklas melalui jalur NF-κB dan NFATc1, sehingga terjadi peningkatan osteoklastogenesis dan resorpsi tulang (Liu *et al.*, 2023; Chen *et al.*, 2024). Sehingga defisiensi estrogen menyebabkan peningkatan aktivasi jalur

inflamasi NF- κ B dan MAPK serta meningkatkan produksi sitokin proinflamasi, seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6, yang berperan dalam meningkatkan aktivasi RANKL (Wang *et al.*, 2023). Defisiensi estrogen juga meningkatkan produksi ROS yang memicu stres oksidatif, menghambat diferensiasi osteoblas melalui penurunan RUNX2 dan osterix, serta meningkatkan apoptosis osteoblas dan aktivasi osteoklas (Zhang *et al.*, 2024; Zhou *et al.*, 2023). Interaksi antara inflamasi dan stres oksidatif membentuk siklus yang saling memperkuat sehingga mempercepat kerusakan tulang dan menyebabkan ketidakseimbangan remodeling tulang dan terjadi resorpsi (Wang *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2023). Senyawa bioaktif ekstrak *T. procumbens*, terutama flavonoid seperti quercetin, kaempferol, dan apigenin, bekerja menghambat jalur NF- κ B dan MAPK melalui modulasi SIRT1 sehingga menurunkan sitokin proinflamasi, serta mengaktifkan jalur Nrf2 untuk menekan ROS dan melindungi osteoblas (Panche *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2023). Selain itu, flavonoid berperan sebagai fitoestrogen yang dapat mengaktifkan reseptor ER α dan ER β sehingga meningkatkan aktivitas osteoblas dan pembentukan tulang pada kondisi hipoestrogen (Wang *et al.*, 2020).

3.2 Hipotesis Penelitian

3.2.1 Hipotesis 1

H0 : Ovariectomi pada tikus Wistar tidak dapat menurunkan jumlah osteoblas di tulang femur.

H1 : Ovariectomi pada tikus Wistar dapat menurunkan jumlah osteoblas di tulang femur.

3.2.2 Hipotesis 2

H0 : Ovariectomi pada tikus Wistar tidak dapat meningkatkan jumlah osteoklas di tulang femur.

H1 : Ovariectomi pada tikus Wistar dapat meningkatkan jumlah osteoklas di tulang femur.

3.2.3 Hipotesis 3

H0 : Pemberian ekstrak herba *T. procumbens* tidak bisa meningkatkan jumlah osteoblas di tulang femur tikus Wistar pasca ovariectomi.

H1 : Pemberian ekstrak herba *T.procumbens* bisa meningkatkan jumlah osteoblas di tulang femur tikus Wistar pasca ovariektomi.

3.2.4 Hipotesis 4

H0 : Pemberian ekstrak herba *T.procumbens* tidak bisa menurunkan jumlah osteoklas di tulang femur tikus Wistar pasca ovariektomi.

H1 : Pemberian ekstrak herba *T.procumbens* bisa menurunkan jumlah osteoklas di tulang femur tikus Wistar pasca ovariektomi.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

1. Dosis ekstrak *T. Procumbens* (250 mg kg/bb, 500 mg kg/bb, 750 mg kg/bb)

3.3.2 Variabel Terikat

1. Jumlah osteoblas di tulang femur tikus Wistar pasca ovariektomi
2. Jumlah osteoklas di tulang femur tikus Wistar pasca ovariektomi

3.4 Definisi Operasional Penelitian

1. Ovariektomi merupakan prosedur pembedahan pengangkatan kedua ovarium (*Bilateral ovariectomy*) pada tikus betina untuk menginduksi kondisi hipoestrogen yang menyerupai menopause (Turner *et al.*, 2007). Prosedur dilakukan dengan anestesi, kemudian kedua ovarium diangkat dan luka dijahit sesuai protokol etik penelitian (Kalu, 1991; Lelovas *et al.*,

- 2008). Keberhasilan ovariectomy dievaluasi secara tidak langsung melalui penurunan berat uterus sebagai indikator kondisi hipoeestrogen.
2. Ekstrak *T. procumbens* diperoleh dari bagian akar, batang, dan daun melalui metode maserasi teragitasi menggunakan pelarut metanol P.A dengan perbandingan 1:10 (b/v). Maserasi dilakukan selama 3×24 jam menggunakan shaker, kemudian filtrat diuapkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental (Azwanida, 2015). Ekstrak diberikan secara peroral pada tikus dengan dosis 250, 500, dan 750 mg/kgBB (Debeturu *et al.*, 2022).
 3. Osteoblas adalah sel pembentuk tulang yang secara histologis tampak sebagai sel mononuklear berbentuk kuboidal hingga kolumnar pada permukaan trabekula tulang (Blair and Larrouture, 2017). Sampel penelitian menggunakan *Distal femur metaphysis* kanan tikus Wistar dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E) (Bancroft & Gamble, 2013). Penghitungan jumlah osteoblas dilakukan oleh 2 (dua) orang dengan metode histomorfometri pada 5 (lima) lapang pandang menggunakan mikroskop cahaya perbesaran $400\times$ dan dinyatakan sebagai jumlah sel per lapang pandang (Lelovas *et al.*, 2008).
 4. Osteoklas adalah sel peresorpsi tulang berukuran besar, multinukleat, dan berada pada lakuna resorpsi di permukaan tulang (Dai *et al.*, 2020). Sampel *Distal femur metaphysis* kanan tikus Wistar dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (H&E) (Bancroft & Gamble, 2013). Penghitungan osteoklas dilakukan oleh 2 (dua) orang dengan metode histomorfometri pada 5 (lima) lapang pandang menggunakan mikroskop cahaya perbesaran

400× dan dinyatakan sebagai jumlah sel per lapang pandang (Lelovas et al., 2008).

5. Histomorfometri adalah metode analisis kuantitatif jaringan secara mikroskopik yang digunakan untuk mengukur parameter struktural dan seluler tulang, seperti jumlah osteoblas, osteoklas, luas trabekula, dan ketebalan tulang, berdasarkan pengamatan preparat histologis menggunakan mikroskop cahaya, dan perangkat lunak imageJ (Parfitt *et al.*, 1987).



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan desain *quasi eksperimental* laboratorium secara *in vivo* dan menggunakan *post only control design* yang bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak *T. procumbens* terhadap jumlah osteoblas dan osteoklas di femur tikus Wistar pasca ovariektomi.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat pelaksanaan penelitian ini di Laboratorium Satwa Sehat untuk pemeliharaan hewan coba dan pemeriksaan biomarker penelitian. Adapun waktu pelaksanaan ini dilakukan pada bulan Desember 2025 – Maret 2026.

4.3 Sampel Penelitian

1. Tanaman *T. procumbens* yang didapat dari Laboran Pertanian Malang, sudah ada surat determinasi tanaman dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, No: 000.9.3/7569/102.20/2024.
2. Tikus Wistar betina didapatkan dari Laboratorium Satwa Sehat, Jl. Gamalama II No.7, Pisang Candi, Kec. Sukun, Kota Malang, Jawa Timur 65146.

4.5 Perhitungan Jumlah Sampel Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan dengan metode non-probability sampling, dan jumlah sampel yang diperlukan untuk setiap kelompok ditentukan berdasarkan rumus Federer (Hertanto & Surya, 2025):

$$(p - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$(5 - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$4 (n - 1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$n \geq 19:4 = 4,75 \approx 5 \text{ ekor}$$

Keterangan :

p = Jumlah perlakuan

n = Jumlah sampel dalam 1 (satu) kelompok

Jadi jumlah setiap kelompok perlakuan terdapat 5 (Lima) ekor tikus Wistar betina untuk batas minimal. Penelitian ini menggunakan 6 tikus setiap untuk setiap kelompok sehingga total 30 ekor tikus Wistar.

Pada penelitian ini, hewan coba dikelompokkan ke dalam 5 (Lima) kelompok lihat **Gambar 4.1**, yaitu:

1. SHAM

Sham ini merupakan kelompok tikus Wistar betina yang diberi prosedur tiruan dan terlihat seperti perlakuan sebenarnya, diberi insisi pada abdomen tetapi tidak diberikan tindakan terapi yang sebenarnya. Tujuannya supaya peneliti bisa membedakan efek nyata dari terapi yang telah diberikan (Hohenschurz-schmidt *et al.*, 2023). Perlakuan tikus Wistar

diberikan aquades secara per-oral menggunakan sonde 2 ml setiap hari, dan diberi pakan dan minum *Ad libitum* setiap hari selama 28 hari.

2. Ovariectomi (OVX)

Ovariectomi merupakan kelompok yang hanya dilakukan pengangkatan kedua ovarium seperti model tikus menopause. Tindakan ini bertujuan untuk menginduksi kondisi hipoestrogenik akibat hilangnya sumber utama produksi hormon estrogen, sehingga menyerupai keadaan menopause (Medina *et al.*, 2020). Kelompok ovariectomi ini digunakan sebagai pembanding untuk melihat apakah pemberian ekstrak *T. procumbens* mampu memperbaiki kondisi estrogen yang turun (Shuid *et al.*, 2021). Kelompok tikus Wistar betina pasca ovariectomi yang telah melewati proses penyembuhan 1 (satu) minggu, akan diberikan aquades secara per-oral menggunakan sonde 2 ml setiap hari serta diberi pakan dan minum *Ad libitum* selama 28 hari.

3. OVX+TP 250

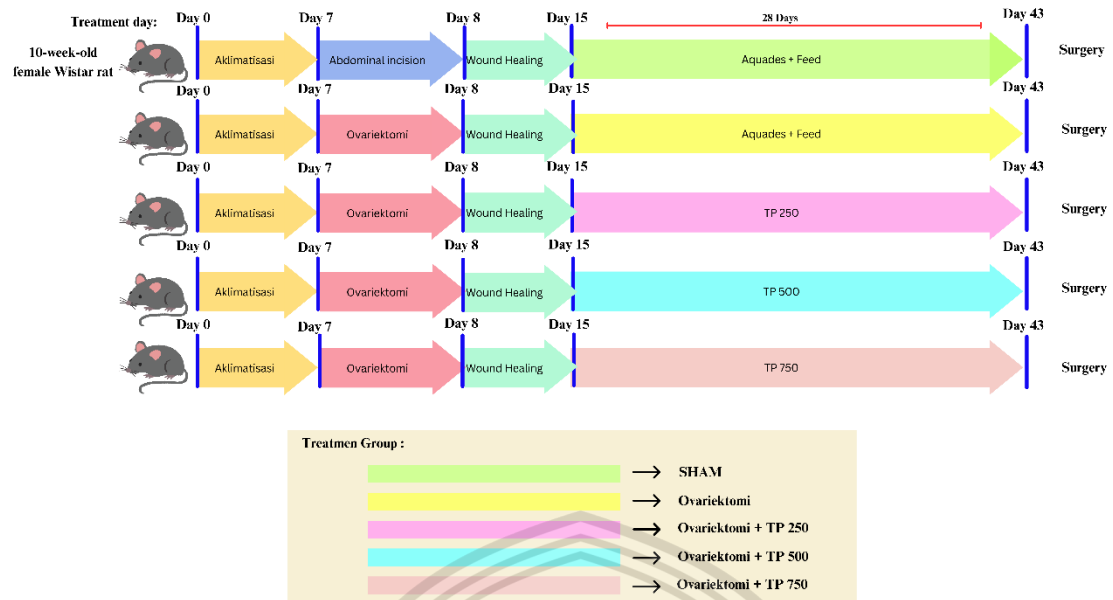
Tikus Wistar betina pasca ovariectomi yang telah melewati proses penyembuhan 1 minggu, dan perlakuannya diberikan ekstrak *T. procumbens* dengan dosis 250 mg yang telah dilarutkan dalam larutan 1% CMC-Na sebagai agen pensuspensi (pengental) untuk meningkatkan viskositas, menjaga homogenitas, dan mencegah pengendapan partikel sehingga ekstrak tersebar secara merata (Debeturu *et al.*, 2022; Sugiarti *et al.*, 2023). Ekstrak *T. Procumbens* diberikan secara per-oral menggunakan sonde oral sebanyak 2 ml setiap hari, dan diberi pakan dan minum *Ad libitum* selama 28 hari.

4. OVX+TP 500

Tikus Wistar betina pasca ovariectomi yang telah melewati proses penyembuhan 1 minggu, dan perlakuannya diberikan ekstrak *T.procumbens* dengan dosis 500 mg yang telah dilarutkan dalam larutan 1% CMC-Na sebagai agen pensuspensi (pengental) untuk meningkatkan viskositas, menjaga homogenitas, dan mencegah pengendapan partikel sehingga ekstrak tersebar secara merata (Debeturu *et al.*, 2022; Sugiarti *et al.*, 2023). Ekstrak *T. Procumbens* diberikan secara per-oral menggunakan sonde oral sebanyak 2 ml setiap hari, dan diberi pakan dan minum *Ad libitum* selama 28 hari.

5. OVX+TP 750

Tikus Wistar betina pasca ovariectomi yang telah melewati proses penyembuhan 1 minggu, dan perlakuannya diberikan ekstrak *T.procumbens* dengan dosis 750 mg yang telah dilarutkan dalam larutan 1% CMC-Na sebagai agen pensuspensi (pengental) untuk meningkatkan viskositas, menjaga homogenitas, dan mencegah pengendapan partikel sehingga ekstrak tersebar secara merata (Debeturu *et al.*, 2022; Sugiarti *et al.*, 2023). Ekstrak *T. Procumbens* diberikan secara per-oral menggunakan sonde oral sebanyak 2 ml setiap hari, dan diberi pakan dan minum *Ad libitum* selama 28 hari.



Gambar 4.1 Pengelompokan Perlakuan Hewan Coba

Tikus akan diletakkan dalam kandang *single cage* atau individual di Laboratorium Satwa Sehat selama 7 hari untuk proses adaptasi (aklimatisasi). Tikus diberikan makan dan minum standar laboratorium selama proses adaptasi. Setelah adaptasi tikus selesai, dilakukan ovariectomi untuk kelompok yang akan di ovariectomi. Dilanjutkan masa penyembuhan selama 7 hari, setelah itu tikus diberikan perlakuan selama 28 hari. Jika perlakuan selesai dilanjutkan pembedahan untuk mengambil tulang femur dan dilakukan pemeriksaan histologi.

a. Penghitungan Dosis Ekstrak

1. Dosis ekstrak (250mg/kgBB)

Dosis: 250 mg/kg BB

Jumlah tikus: 6 ekor

BB rerata : 134,17 g = 0,13417 kg

$250 \times 0,13417 = 33,54 \text{ mg/ekor/hari}$

Volume sonde: 2 mL/ekor/hari

2. Dosis ekstrak (500mg/kgBB)

Dosis: 500 mg/kg BB

Jumlah tikus: 6 ekor

BB rerata : 158 g = 0,158 kg

$500 \times 0,158 = 79 \text{ mg/ekor/hari}$

Volume sonde: 2 mL/ekor/hari

3. Dosis ekstrak (750mg/kgBB)

Dosis: 750 mg/kg BB

Jumlah tikus: 6 ekor

BB rerata : 132,17 g = 0,13217

$750 \times 0,13217 = 99,13 \text{ mg/ekor/hari}$

Volume sonde: 2 mL/ekor/hari

- **Volume per hari untuk 30 ekor tikus :** $30 \text{ ekor} \times 2 \text{ mL} = 60 \text{ ml/hari}$
- **Volume 28 hari untuk 30 ekor :** $60 \text{ ml} \times 28 = 1.680 \text{ mL}$

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Hewan Coba

1. Kandang tikus individual
2. Penutup kandang
3. Botol minuman
4. Pakan A11 *New Hope*
5. Ekstrak *T. procumbens*
6. Sonde
7. Aquades
8. Sekam

9. Timbangan BB

4.7.2 Alat dan Bahan Ekstraksi *T. procumbens*

1. Simplisia *T. Procumbens*
2. Metanol P.A
3. Shaker orbital
4. Blander
5. Erlenmeyer 1000 ml
6. Stoppe penutup labu
7. Neraca analitik digital (0.001 g)
8. *Vacuum rotary evaporator*
9. Beaker glass 500 ml
10. Gelas ukur 100 ml
11. Pipet
12. Spatula
13. Corong buchner
14. Kertas saring (Whatman No.1)
15. Alat pelindung diri

4.7.3 Alat dan Bahan Ovariektomi

1. Handscoen
2. Hecting set (steril)
3. Benang jahit (Vicryl 4-0 / 5-0 dan Nylon 4-0)
4. Spuit 3 cc
5. Kasa dan kapas steril

6. Papan pembedahan
7. Underpad
8. Lampu bedah
9. Mosquito hemostat
10. Ketamin (50–100 mg/kg)
11. Xilazin (50–100 mg/kg)
12. Alkohol 70%
13. NaCl 0,9%
14. Antibiotik

4.7.4 Alat dan Bahan Pembuatan Slide/Preparat

1. Blok preparate
2. Objek glass
3. Oven
4. Xylol
5. Alkohol Absolut 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 95%
6. 10% *Neutral Buffered Formalin* (NBF)
7. Alat mikrotom
8. Inkubator
9. Calcium -> Dekalsifikasi

4.7.5 Alat dan Bahan Pewarnaan Hematoksilin–Eosin (HE)

1. Object glass
2. Deck glass
3. Hotplate

4. Pipet tetes
5. Timer
6. Forceps (pinset)
7. Xylene
8. Etanol (70%, 80%, 95%, 100%)
9. Aquades
10. Larutan hematoksin
11. Larutan Eosin

4.7.6 Alat dan Bahan Aplikasi *Digital Histomorfometri*

1. OsteoMeasure (OsteoMetrics Inc.)
2. Aplikasi Image J
3. Kamera Mikroskop
4. Mikroskop Cahaya Binocular
5. Preparat histologi femur telah dilakukan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE)

4.8 Tahapan Penelitian

4.8.1 Metode Ekstraksi *T. procumbens*

Tahapan proses pembuatan ekstrak *T. procumbens* menggunakan metode maserasi dengan pengocokan (*Agitated Maceration*) yang akan dilakukan adalah :

1. Tanaman *T. procumbens* pertama-tama dikumpulkan, dicuci bersih, lalu dikeringkan pada suhu ruangan atau dalam oven bersuhu rendah (40–50 °C) hingga kandungan airnya sangat rendah untuk mencegah pertumbuhan

mikroba selama proses ekstraksi. Setelah benar-benar kering, daun-daun tersebut giling menggunakan blender menjadi bubuk halus, sehingga memungkinkan ekstraksi senyawa aktif yang lebih efektif (Bera & Banerjee, 2023).

2. Serbuk simplisia tersebut kemudian ditimbang sesuai kebutuhan yaitu 100 gram dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer, setelah itu ditambahkan 1000 ml Metanol P.A dengan perbandingan 1:10. Campuran simplisia dan pelarut kemudian dicampur menggunakan *Shaker orbital* yaitu alat yang menggerakkan larutan dengan putaran melingkar secara terus-menerus pada kecepatan 120–150 rpm selama 24–48 jam untuk mempercepat difusi senyawa aktif ke dalam pelarut, yang lebih efisien dari pada merendam tanpa pengocokan (Vargas *et al.*, 2020).
3. Setelah pengocokan, campuran tersebut disaring terlebih dahulu dengan kain saring, kemudian disaring kembali menggunakan kertas saring Whatman No. 1 untuk mendapatkan filtrat yang lebih jernih (Andry *et al.*, 2025).
4. Filtrat metanol yang dikumpulkan kemudian diuapkan menggunakan *Vacuum rotary evaporator* pada suhu 40–50 °C hingga tersisa ekstrak kental tanpa pelarut, yang dapat digunakan untuk analisis fitokimia maupun uji bioaktivitas (Faisal *et al.*, 2023).

4.8.2 Proses Pembedahan Pengambilan Ovarium

Tikus Wistar betina (*Rattus norvegicus*) yang sudah berusia sekitar 3-4 bulan dengan berat badan antara 100 sampai 200 gram, dipilih untuk dilakukan perlakuan pengambilan ovarium (Alimuddin *et al.*, 2019). Tahap awal semua

peralatan bedah dipersiapkan terlebih dahulu dan dibersihkan menggunakan prosedur sterilisasi yang tepat sebelum prosedur dilakukan (Rejeki *et al.*, 2019). Diberikan Injeksi Peritoneal pada tikus Wistar 45° berisikan campuran anestesi Ketamine dan Xylazine dengan dosis 50–100 mg/kg dari berat tikus (Sotoudeh & Namavar, 2022). Setelah tikus Wistar terbius, area perut dibersihkan dengan alkohol 70% dan larutan NaCl 0,9% untuk mengurangi resiko terkontaminasi. Tikus Wistar disayat perlahan untuk membuka rongga perut dan menemukan ovarium, kemudian dijepit dengan hemostat dan diikat di ujung oviduk menggunakan benang jahit sebelum dipisahkan dan diangkat (Rejeki *et al.*, 2019). Setelah ovarium diangkat, rongga perut diisi dengan larutan NaCl 0,9% untuk menjaga kelembapan jaringan dan mencegah dehidrasi internal (Primasari, 2019). Luka bedah kemudian ditutup dengan menjahit lapisan otot dan kulit menggunakan vicryl 5-0 dan nylon 4-0, dan area sayatan dioles antibiotik sesuai prosedur mencegah infeksi pasca operasi. Setelah semua langkah selesai, hewan ditempatkan di tempat pemulihan selama 1 minggu, setelah itu diberi perlakuan sesuai kelompok (Rejeki *et al.*, 2019).

4.8.3 Pembuatan Preparat Tulang Femur

Tahapan pembuatan preparat jaringan tulang femur dilakukan melalui beberapa langkah sebagai berikut:

1. Fiksasi

Fiksasi adalah tahap awal yang melibatkan penambahan larutan *Neutral Buffered Formaline* (NBF) 10% untuk menghentikan aktivitas sel sehingga

sel tidak membelah dan mencegah kerusakan atau penghancuran struktur sel dan jaringan (Rahmawanti *et al.*, 2021).

2. Dehidrasi

Dehidrasi adalah proses penghilangan udara dan sisa larutan fiksasi dari jaringan, yang kemudian digantikan dengan cairan dehidrasi. Tahap ini dilakukan dengan direndam jaringan secara bertahap dalam alkohol dengan konsentrasi yang meningkat, yaitu 30%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%. Perubahan bertahap ini membantu meminimalkan penyusutan jaringan (Prasetya, 2022).

3. Pembersihan/Clearing

Pembersihan adalah proses menghilangkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan cairan yang dapat terikat dengan parafin (Juliati, 2017). *Xylol* sering digunakan dalam proses ini, tetapi bahan lain seperti benzol atau kloroform juga dapat digunakan (Ariyadi & Suryono, 2017).

4. Infiltrasi Parafin

Infiltrasi adalah tahap pengisian jaringan dengan parafin. Jaringan dipindahkan dari cairan pembersih ke parafin dalam oven pada titik lelehnya. Untuk jaringan dengan ketebalan 5–7 mikron, digunakan parafin dengan titik leleh 56–58°C, sedangkan jaringan dengan ketebalan kurang dari 5 mikron menggunakan parafin dengan titik leleh 60–68°C. Jaringan ditempatkan dalam oven pada media parafin cair selama 30 menit hingga 1 jam (Prasetya, 2022).

5. Pengeblokan / *Embedding*

Embedding adalah proses pembuatan blok preparat dengan dimasukkan jaringan yang telah diinfiltrasi ke dalam cetakan. Proses ini bertujuan untuk menstabilkan jaringan dalam bentuk permanen sehingga dapat dipotong dengan mudah menggunakan mikrotom (Juliati, 2017).

6. Pemotongan Jaringan

Sectioning adalah tahap yang dilakukan sebelum pewarnaan sampel. Jaringan yang telah melewati proses *embedding* dipotong serial sections setebal 4–6 μm . Siapkan minimal 3 potongan/sampel (opsional: 5 potongan untuk keandalan). Hasil irisan jaringan kemudian ditempatkan dalam wadah berisi udara pada suhu 49°C untuk meregangkan irisan, setelah itu ditempelkan pada slide kaca. Selanjutnya disimpan dalam inkubator agar sampel dalam preparate mongering, dilakukan selama ± 2 sampai 3 jam (Rahmawanti *et al.*, 2021).

4.8.4 Pewarnaan Preparat Histologi Tulang Femur dengan Pewarnaan Hematoksin Eosin (HE)

Sebelum proses pewarnaan dimulai, preparat histologi tulang femur yang telah dipotong tipis diletakkan di atas object glass dan dikeringkan pada hotplate agar menempel kuat pada kaca objek. Preparat histologi tulang femur terlebih dahulu menjalani proses deparafinisasi dan direndam dalam xylol selama kurang lebih 3 menit untuk menghilangkan parafin yang terkandung dalam tulang femur. Setelah parafin dihilangkan, tahap rehidrasi dilakukan untuk mengisi kembali rongga jaringan dengan air, yaitu dengan preparat yang di rendam secara berurutan dalam alkohol 80%, 90%, dan 100%, masing-masing selama kurang lebih 2 menit, kemudian dibilas

dengan air mengalir selama ± 3 menit. Tahap pewarnaan pertama dilakukan dengan *hematoxylin* selama 7 menit untuk mewarnai inti sel dan sitoplasma. Selanjutnya, diferensiasi dilakukan menggunakan larutan HCl 0,6% untuk mengurangi warna biru berlebih pada sitoplasma dan menonjolkan warna inti sel. Proses *Blueing* menggunakan 0,5% Lithium karbonat dilakukan untuk memperjelas warna biru pada inti sel. Tahap kedua pewarnaan menggunakan eosin dilakukan untuk memberikan warna merah pada sitoplasma. Tahap berikutnya adalah rehidrasi ulang dengan preparat yang direndam dalam alkohol 80%, alkohol 90%, dan alkohol anhidrous untuk dihilangkan air sisa dari jaringan. Preparat kemudian diimobilisasi dan diawetkan menggunakan *Entellan*, lalu ditutup perlahan dengan kaca penutup untuk mencegah pembentukan gelembung udara (Ariyadi & Suryono, 2017). Spesimen kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan difoto menggunakan optilab (Rahmawanti *et al.*, 2021).

4.8.5 Kalibrasi mikroskop, Pemilihan bidang pengamatan , Histomorfometri Os Femur

Berikut Langkah-langkahnya :

a. Kalibrasi mikroskop & area bidang pengamatan

1. Pasang stage micrometer dan ambil foto/lihat dengan objektif 40 $\times$. Catat jumlah divisi micrometer yang menutupi diameter bidang pandang (field diameter) pada perbesaran 400 $\times$.
2. Hitung luas bidang pandang (Afield):

a. Ukur diameter (d) dalam μm $\rightarrow$ radius $r = d/2$.

b. Luas $A = \pi \times r^2$ (dalam μm^2).

c. Konversi ke mm^2 : $1 \text{ mm}^2 = 1,000,000 \mu\text{m}^2$.

Contoh: jika $d = 500 \mu\text{m} \rightarrow r = 250 \mu\text{m} \rightarrow A = 3.1416 \times 250^2 = 196,350 \mu\text{m}^2 = 0.19635 \text{ mm}^2$.

Catatan penting: Diameter bidang pandang bergantung pada kombinasi objektif, okuler, dan kamera selalu kalibrasi di lapangan lab.

b. Pemilihan Bidang Pengamatan & Jumlah Bidang

1. Untuk setiap potongan, ambil 5 bidang non-overlapping yang dipilih secara sistematis/acak di area yang representatif (*Distal femur metaphysis*).
2. Hindari daerah rusak/mengkerut atau area tepi yang terpotong buruk.
3. Dengan 3 potongan per sampel $\times$ 5 bidang per potongan = 15 bidang per sampel.
4. Dengan 5 ulangan $\rightarrow$ total bidang = $5 \times 15 = 75$ bidang.

c. Penghitungan Sel Secara Manual

1. Buka setiap bidang pada perbesaran $400\times$ (menggunakan mikroskop cahaya binocular).
2. Identifikasi dan hitung:
 - a. Osteoblas: sel mononuklear berbentuk kuboidal/kolumnar yang melapisi permukaan trabekula, nukleus bulat, sitoplasma basofilik.

- b. Osteoklas: sel besar multinuveli (≥ 3 nucleus), biasanya pada permukaan resorpsi atau dalam *Howship's lacunae*; TRAP+ jika pewarnaan dilakukan (Crumbie, 2023).
3. Catat jumlah osteoblas dan osteoklas untuk setiap bidang.
4. Dokumentasi fotografi setiap bidang pandang dilakukan menggunakan kamera mikroskop yang terhubung dengan komputer untuk verifikasi hasil dan analisis tambahan jika diperlukan (Aeffner *et al.*, 2018).

d. Analisis *Digital Histomorfometri* Menggunakan Software ImageJ

1. Langkah pertama yang sangat penting adalah kalibrasi skala mikroskopis dengan membuka gambar mikrometer atau gambar kalibrasi yang ditangkap pada perbesaran yang sama dengan spesimen, kemudian memilih menu Analyze > Set Scale dan memasukkan jarak diketahui dalam mikrometer (Kumar *et al.*, 2017).
2. Untuk analisis osteoblas pada gambar H&E, gambar dikonversi ke grayscale atau menggunakan color threshold untuk memilih area yang sesuai dengan kriteria pewarnaan basofilik pada sitoplasma (Eggert *et al.*, 2017). Penggunaan *Region of Interest* (ROI) Manager pada ImageJ memungkinkan pembatasan area analisis hanya pada daerah metafisis distal femur yang diinginkan, sehingga hasil penghitungan lebih spesifik dan akurat (Schneider *et al.*, 2012).
3. Analisis osteoklas TRAP-positif, penyesuaian parameter threshold berdasarkan rentang warna HSV (*Hue-Saturation-Value*) diperlukan karena pewarnaan TRAP menghasilkan warna merah yang spesifik. ImageJ menyediakan alat *Color Threshold* yang memungkinkan pengguna memilih

rentang warna merah-ungu yang mewakili sel TRAP-positif, dan fungsi *Analyze > Analyze Particles* dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan menghitung objek yang memenuhi kriteria ukuran dan circularitas (Malhan *et al.*, 2018).

4. Hasil penghitungan osteoblas dan osteoklas diekspresikan dalam bentuk jumlah sel per mm² luas area tulang pada metafisis distal femur sesuai dengan nomenklatur standar untuk histomorfometri tulang *American Society for Bone and Mineral Research* (ASBMR) (Dempster *et al.*, 2013). Perhitungan luas area tulang dilakukan menggunakan software ImageJ dengan cara membuka gambar, mengkonversi ke *binary*, dan mengukur luas area yang terwarnai (Malhan *et al.*, 2018). Hasil akhir dinyatakan sebagai jumlah osteoblas per mm² dan jumlah osteoklas per mm² untuk memungkinkan perbandingan kuantitatif antar kelompok eksperimental (Dempster *et al.*, 2013).

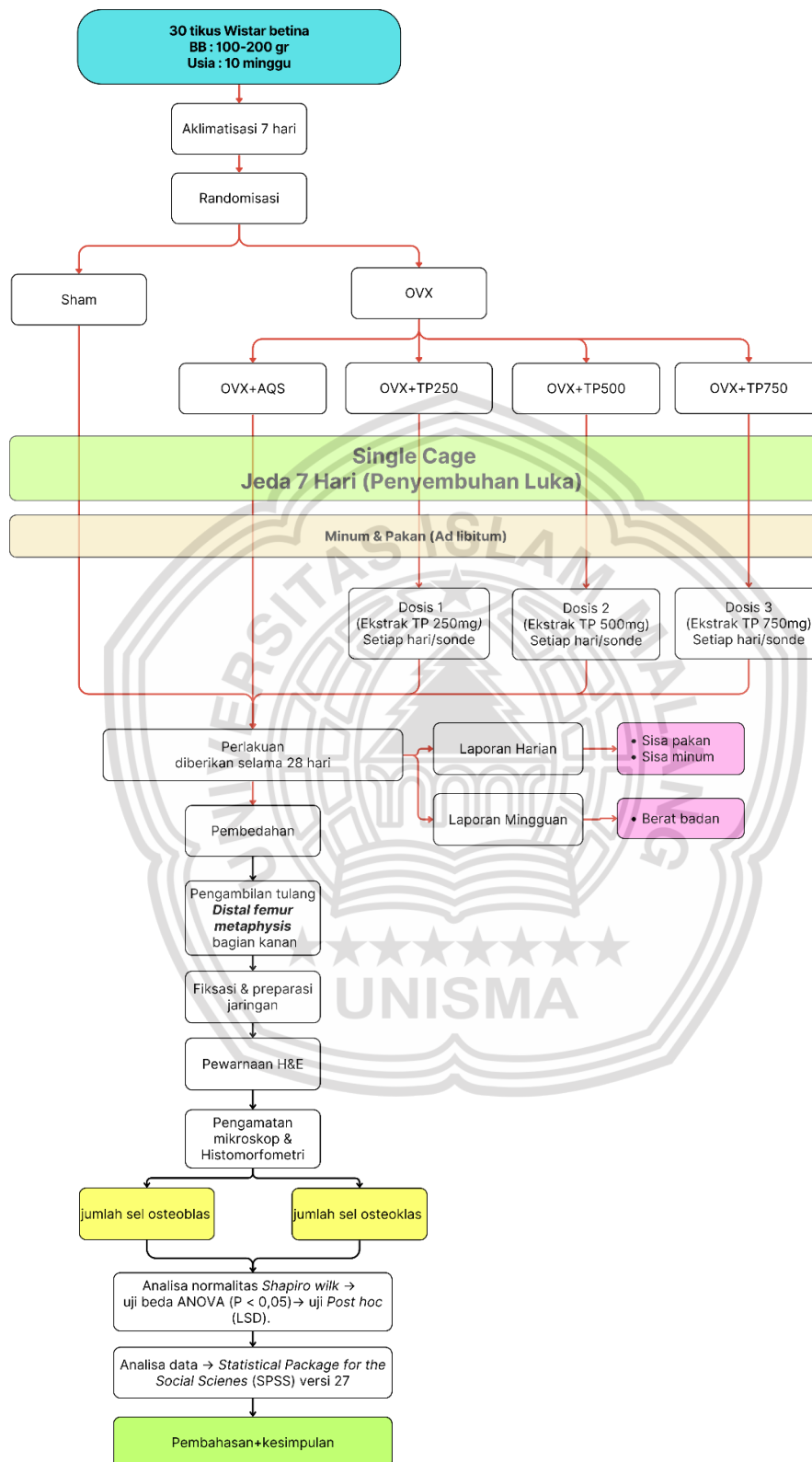
4.9 Analisis Data

Data disajikan dalam bentuk nilai rata-rata $\pm$ standar deviasi (SD). Analisis data pada variabel jumlah osteoblas menunjukkan data berdistribusi normal berdasarkan uji *Shapiro Wilk* ($p > 0,05$) dan memiliki varians yang homogen berdasarkan uji *Levene* ($p > 0,05$). Oleh karena itu, analisis dilanjutkan menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA*. Uji *ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p < 0,05$), sehingga dilanjutkan dengan uji *post hoc Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui perbedaan antar masing-masing kelompok secara rinci. Pada variabel jumlah osteoklas, uji *Shapiro Wilk* menunjukkan bahwa data tidak

berdistribusi normal ($p < 0,05$), meskipun uji homogenitas Levene menunjukkan varians yang homogen ($p > 0,05$). Oleh karena itu, analisis statistik dilanjutkan menggunakan uji nonparametrik *Kruskal Wallis*. Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok ($p < 0,05$), sehingga dilakukan uji lanjutan *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan signifikan antar masing-masing kelompok. Analisa data ini menggunakan *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versi 27.



4.10 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

BAB V

HASIL DAN ANALISA DATA

5.1 Karakteristik Hewan Coba

Karakteristik berat badan masing-masing kelompok perlakuan lihat **Tabel 5.1**.

Tabel 5. 1 Karakteristik Berat Badan Sampel Penelitian

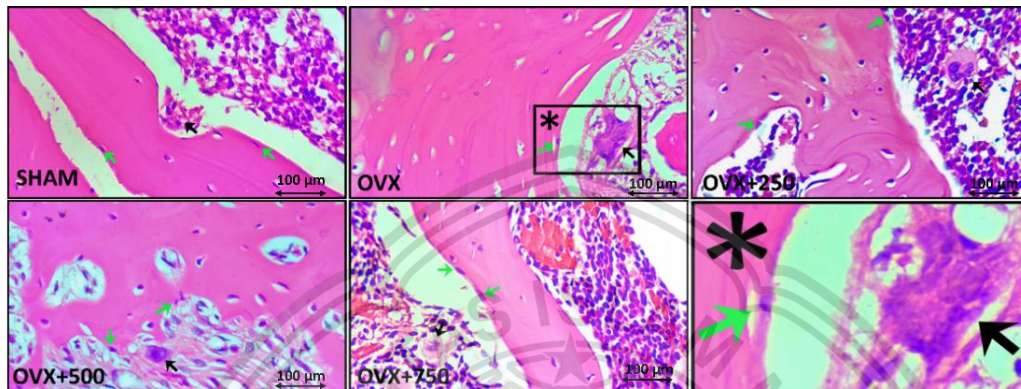
Kelompok	BB Awal (g)	BB Sebelum Perlakuan (g)	BB Setelah Perlakuan (g)	Δ BB (%)
SHAM	136,17 $\pm$ 22,68	139,83 $\pm$ 30,21	152,00 $\pm$ 20,77	9%
OVX	146,50 $\pm$ 18,85	149,83 $\pm$ 19,29	176,33 $\pm$ 45,39	18%
OVX+TP250	134,17 $\pm$ 20,85	136,67 $\pm$ 25,05	162,67 $\pm$ 19,24	19%
OVX+TP500	158,00 $\pm$ 21,09	163,50 $\pm$ 23,10	186,67 $\pm$ 30,87	14%
OVX+TP750	132,17 $\pm$ 30,53	137,00 $\pm$ 10,60	162,50 $\pm$ 31,07	19%

Keterangan: Hasil ditulis dalam rerata $\pm$ SD. Δ BB= Perubahan berat badan; SHAM= Kelompok kontrol; OVX= Kelompok hanya diovariectomi; OVX+TP250= Kelompok diovariectomi dan pemberian herbal dosis 250 mg/kgBB; OVX+TP500= Kelompok diovariectomi dan pemberian herbal dosis 500 mg/kgBB; OVX+TP750= Kelompok diovariectomi dan pemberian herbal dosis 750 mg/kgBB.

Berdasarkan **Tabel 5.1**, seluruh kelompok mengalami peningkatan berat badan (BB) setelah perlakuan. Persentase peningkatan berat badan tertinggi terdapat pada kelompok OVX+TP250 dan OVX+TP750 sebesar 19%, diikuti kelompok OVX sebesar 18%, OVX+TP500 sebesar 14%, dan SHAM sebesar 9%. Namun, hasil uji statistik *One Way Anova* menunjukkan bahwa peningkatan berat badan antar kelompok tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$). Data berat badan sampel penelitian ini merupakan data bersama kelompok penelitian berdasarkan keputusan Dewan Riset No. 047/A341/U.10/D/A.06/X/2025. Peneliti tidak memiliki hak sepenuhnya pada kepemilikan data.

5.2 Efek Ekstrak *T. procumbens* Pada Jumlah Osteoblas Tikus Wistar Pasca Ovariectomi

Perbedaan jumlah sel dan hasil perhitungan jumlah sel osteoblas pada kelompok SHAM, OVX, OVX+TP250, OVX+TP500, OVX+TP750 dapat dilihat pada **Gambar 5.1**, **Gambar 5.2** dan **Tabel 5.1**.



Gambar 5. 1 Gambaran Histopatologi Jumlah Osteoblas dan Osteoklas Pada Tulang Femur Tikus Wistar Betina Berdasarkan Kelompok Perlakuan (HE, 400x)

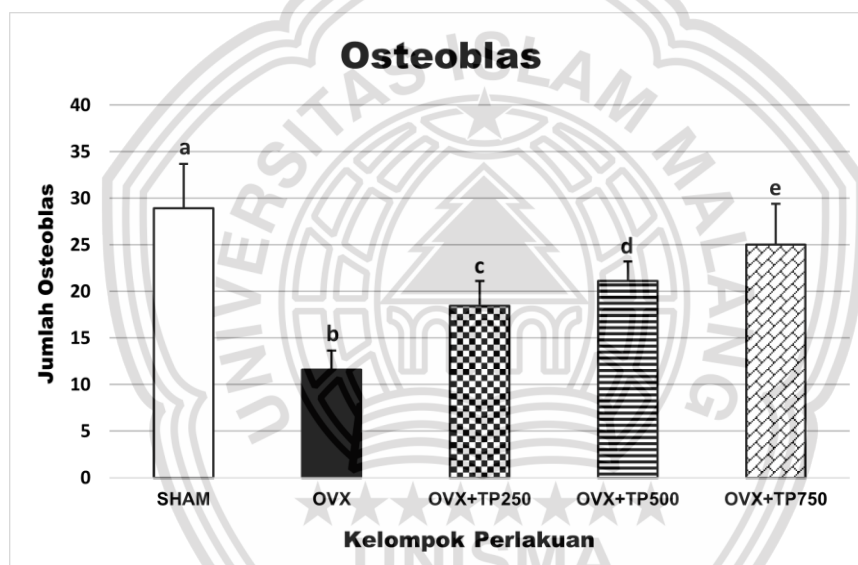
Keterangan: (*) Tampilan yang diperbesar 1000x. SHAM= Kelompok Kontrol; OVX= Kelompok ovariectomi; OVX+250= Kelompok ovariectomi dengan herbal dosis 250 mg/kgBB= OVX+500= Kelompok ovariectomi dengan herbal dosis 500 mg/kgBB, OVX+750= Kelompok ovariectomi dengan herbal dosis 750 mg. Osteoblas (Panah hijau)= sel tunggal dengan satu inti berbentuk kubus di permukaan tulang. Osteoklas (Panah hitam)= sel besar dengan beberapa inti (≥ 3) di area resorpsi atau di *Howship lacuna*.

Gambaran histopatologi pada **Gambar 5.1** didapatkan penurunan jumlah sel osteoblas pada kelompok OVX secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol atau SHAM ($p < 0,05$). Pada kelompok yang diberi ekstrak *T. procumbens* yaitu kelompok (OVX+250, OVX+500, OVX+750) terjadi peningkatan jumlah osteoblas secara signifikan jika dibandingkan dengan kelompok yang hanya di Ovariectomi (OVX) tanpa pemberian ekstrak ($p < 0,05$). Nilai rata-rata per kelompok, dapat dilihat pada **Tabel 5.2** dan **Gambar 5.2** berikut.

Tabel 5. 2 Rata-Rata Jumlah Osteoblas Pada Kelompok SHAM, OVX, OVX+TP250, OVX+TP500, OVX+TP750

Kelompok	n	Rata-Rata Jumlah Sel $\pm$ SD
SHAM	6	28,90 $\pm$ 4,87 ^a
OVX	6	11,57 $\pm$ 2,08 ^b
OVX+TP250	6	18,47 $\pm$ 2,65 ^c
OVX+TP500	6	21,13 $\pm$ 2,98 ^d
OVX+TP750	6	25,03 $\pm$ 4,36 ^e

Keterangan: Data dalam bentuk rata-rata jumlah sel $\pm$ SD. Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan uji *LSD Test*. n= Jumlah preparat perkelompok; SHAM= Kelompok kontrol; OVX= Kelompok hanya diovariectomi; OVX+TP250= Kelompok diovariectomi dan pemberian herbal dosis 250 mg/kgBB; OVX+TP500= Kelompok diovariectomi dan pemberian herbal dosis 500 mg/kgBB; OVX+TP750= Kelompok diovariectomi dan pemberian herbal dosis 750 mg/kgBB. Hasil berbeda signifikan ditunjukkan oleh notasi huruf yang berbeda ($p < 0,05$, *LSD Test*).



Gambar 5. 2 Histogram Rata-Rata Jumlah Osteoblas Kelompok SHAM, OVX, OVX+TP250, OVX+TP500, OVX+TP750

Keterangan: Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan uji *LSD Test*. SHAM = Kelompok kontrol; OVX = Kelompok hanya diovariectomi; OVX+TP250 = Kelompok diovariectomi dan pemberian ekstrak *T. procumbens* dosis 250 mg/kgBB; OVX+TP500 = Kelompok diovariectomi dan pemberian ekstrak *T. procumbens* dosis 500 mg/kgBB; OVX+TP750 = Kelompok diovariectomi dan pemberian ekstrak *T. procumbens* dosis 750 mg/kgBB. Notasi huruf a, b, c...= huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$, *LSD Test*).

Pada **Tabel 5.2** dan **Gambar 5.2** menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki perbedaan jumlah osteoblas yang signifikan ($p < 0,05$). kelompok OVX mengalami penurunan jumlah osteoblas secara signifikan sebesar 60%

dibandingkan kelompok SHAM ($p < 0,05$). Sedangkan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak *T. procumbens* OVX+TP250, OVX+TP500, dan OVX+TP750 menunjukkan peningkatan jumlah osteoblas yang signifikan berturut-turut sekitar 60%, 83%, dan 116% dibandingkan kelompok OVX ($p < 0,05$).

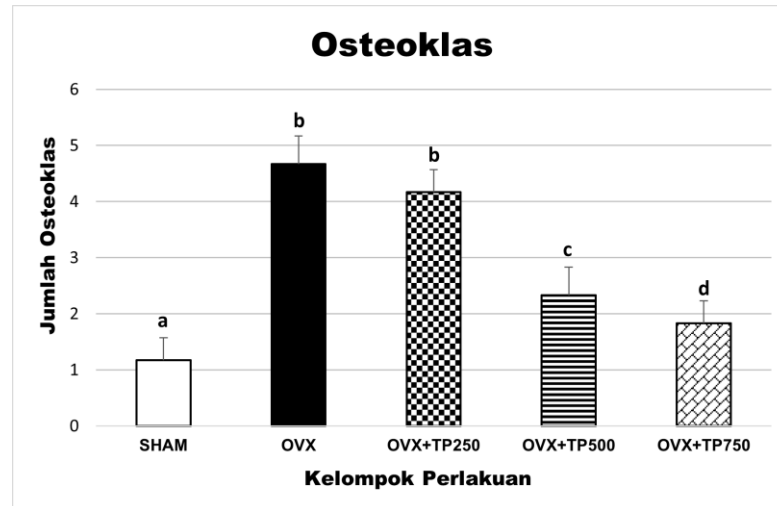
5.3 Efek Ekstrak *T. procumbens* Pada Jumlah Osteoklas Tikus Wistar Pasca Ovariectomi

Perbedaan rata-rata jumlah sel osteoklas pada kelompok SHAM, OVX, OVX+TP250, OVX+TP500, OVX+TP750 dapat dilihat pada **Gambar 5.1**, **Gambar 5.3** dan **Tabel 5.3**.

Tabel 5. 3 Rata-Rata Jumlah Osteoklas Pada Kelompok SHAM, OVX, OVX+TP250, OVX+TP500, OVX+TP750

Kelompok	n	Rata-Rata Jumlah Sel $\pm$ SD
SHAM	6	1,17 $\pm$ 0,4 ^a
OVX	6	4,67 $\pm$ 0,5 ^b
OVX+TP250	6	4,17 $\pm$ 0,4 ^b
OVX+TP500	6	2,33 $\pm$ 0,5 ^c
OVX+TP750	6	1,83 $\pm$ 0,4 ^d

Keterangan: Data dalam bentuk rata-rata sel $\pm$ SD. Uji statistik dengan non-parametrik *Kruskal Wallis* dan uji *Mann-Whitney Test*. n= Jumlah preparat perkelompok; SHAM= Kelompok kontrol; OVX= Kelompok hanya diovariectomi; OVX+TP250= Kelompok diovariectomi dan pemberian herbal dosis 250 mg/kgBB; OVX+TP500= Kelompok diovariectomi dan pemberian herbal dosis 500 mg/kgBB; OVX+TP750= Kelompok diovariectomi dan pemberian herbal dosis 750 mg/kgBB. Hasil berbeda signifikan ditunjukkan oleh notasi huruf yang berbeda ($p < 0,05$, *Mann-Whitney Test*).



Gambar 5. 3 Histogram Rata-Rata Jumlah Osteoklas Kelompok SHAM, OVX, OVX+TP250, OVX+TP500, OVX+TP750

Keterangan: Uji statistik menggunakan *Kruskal Wallis* dan uji *Mann-Whitney Test*. SHAM = Kelompok kontrol; OVX = Kelompok hanya diovariectomi; OVX+TP250 = Kelompok diovariectomi dan pemberian ekstrak *T. procumbens* dosis 250 mg/kgBB; OVX+TP500 = Kelompok diovariectomi dan pemberian ekstrak *T. procumbens* dosis 500 mg/kgBB; OVX+TP750 = Kelompok diovariectomi dan pemberian ekstrak *T. procumbens* dosis 750 mg/kgBB. Notasi huruf a, b, c...= huruf berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$, *Mann Whitney Test*).

Berdasarkan **Tabel 5.3** dan **Gambar 5.3**, kelompok OVX menunjukkan peningkatan jumlah osteoklas yang signifikan sebesar 3 kali lipat dibandingkan kelompok SHAM ($p < 0,05$). Sementara itu, kelompok OVX+TP250 menurunkan jumlah osteoklas dan tidak berbeda dengan kelompok OVX ($p > 0,05$). Sedangkan kelompok OVX+TP500 dan OVX+TP750 mengalami penurunan jumlah osteoklas secara signifikan berturut-turut sebesar 50% dan 61% dibandingkan kelompok OVX ($p < 0,05$).

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Karakteristik Hewan Coba

Penggunaan tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) betina usia reproduksi (8–10 minggu) dengan berat 100–200 gram. Penelitian ini menggunakan tikus Wistar sebagai hewan model yang banyak digunakan dan telah tervalidasi untuk mempelajari metabolisme dan tulang, khususnya dalam penelitian osteoporosis pascamenopause, karena menunjukkan respons fisiologis yang mirip dengan manusia dalam merespons perubahan hormonal (Souza *et al.*, 2024). Selain itu, tikus memiliki tingkat kesamaan genetik yang tinggi dengan manusia sekitar 85–90%. Gen tikus wistar bersifat homolog dan menunjukkan kesamaan dalam sistem fisiologis, terutama sistem endokrin dan metabolik, sehingga sering digunakan sebagai model translasi dalam penelitian biomedis (Gibbs *et al.*, 2015; Howe *et al.*, 2021).

Pemilihan tikus betina pada usia 8 (delapan) sampai 10 minggu bertujuan untuk memastikan kondisi hormonal yang stabil sebelum intervensi, karena pada rentang usia muda hingga dewasa, tikus berada dalam fase reproduksi aktif dengan fisiologis yang relatif seragam, sehingga meminimalkan variasi biologis di antara sampel (Lee *et al.*, 2024). Selain itu, penggunaan hewan yang sehat, aktif, dan tidak terluka, bersama dengan ukuran sampel sebanyak 30 tikus, diterapkan untuk meningkatkan validitas dan reliabilitas temuan penelitian. (Festing & Altman, 2002; Charan & Kantharia, 2013).

Peningkatan berat badan pada kelompok OVX, OVX+TP250, OVX+TP500, OVX+TP750 dibandingkan dengan kelompok kontrol SHAM,

dalam penelitian ini sejalan dengan berbagai penelitian yang menunjukkan bahwa ovariectomi dapat menyebabkan peningkatan berat badan dan adipositas akibat hilangnya estrogen (Asarian & Geary, 2013). Mekanisme fisiologis utama peningkatan berat badan pasca ovariectomi melibatkan penurunan kadar estrogen yang mengakibatkan gangguan regulasi homeostasis energi, termasuk pengurangan termogenesis di jaringan adiposa coklat dan peningkatan akumulasi lemak visceral melalui hiperplasia dan hipertrofi adiposit. Estrogen diketahui berperan dalam menghambat asupan makanan dan mengatur keseimbangan energi. Oleh karena itu, penurunan kadar estrogen memicu peningkatan konsumsi makanan dan penumpukan lemak tubuh (Asarian & Geary, 2013).

Selain itu, penelitian pada hewan menunjukkan tikus yang diovariectomi mengalami penambahan berat badan yang lebih cepat dibandingkan dengan kelompok kontrol (Rogers *et al.*, 2009). Ketika kadar estrogen menurun, respons terhadap leptin dan insulin juga menurun, sehingga mengganggu pengendalian rasa kenyang dan berkontribusi terhadap penambahan berat badan (Bless *et al.*, 2014). Peningkatan berat badan tidak hanya dipengaruhi oleh jumlah asupan makanan, tetapi juga oleh perubahan metabolisme energi dan distribusi lemak tubuh yang disebabkan oleh defisiensi estrogen (Lovejoy *et al.*, 2008). Dengan demikian, penambahan berat badan pada kelompok OVX disebabkan oleh faktor hormonal dan metabolik yang lebih dominan daripada jumlah makanan yang dikonsumsi (Asarian & Geary, 2013).

6.2 Ekstrak *T. procumbens* Meningkatkan Jumlah Osteoblas Pada Tikus Wistar Pasca Ovariectomi.

Pemberian ekstrak *T. procumbens* pada tikus yang telah diovariektomi terbukti meningkatkan jumlah osteoblas dalam penelitian ini dapat dijelaskan melalui keterkaitannya dengan perbaikan gangguan sistem endokrin, khususnya pada *hypothalamic–pituitary–adrenal* (HPA) axis yang terganggu akibat defisiensi estrogen (Zuloaga *et al.*, 2020). Ovariektomi menyebabkan penurunan estrogen yang normalnya berfungsi mengontrol aktivitas HPA axis, sehingga terjadi peningkatan pelepasan *corticotropin-releasing hormone* (CRH) dari hipotalamus, diikuti peningkatan *adrenocorticotrophic hormone* (ACTH) dari hipofisis, dan akhirnya meningkatkan produksi glukokortikoid dari kelenjar adrenal (Wang *et al.*, 2020). Kadar glukokortikoid yang tinggi ini berdampak negatif pada jaringan tulang dengan menghambat diferensiasi osteoblas, meningkatkan apoptosis osteoblas, serta meningkatkan ekspresi RANKL yang mendorong aktivitas osteoklas (Compston, 2018; Boyle *et al.*, 2017). Selain itu, defisiensi estrogen juga menurunkan aktivasi jalur osteogenik seperti Wnt/ β -catenin dan ekspresi faktor osteoblastik seperti RUNX2, sehingga pembentukan tulang semakin terhambat (Khosla *et al.*, 2018).

Pemberian ekstrak *T. procumbens* yang kaya akan senyawa bioaktif seperti flavonoid (quercetin, kaempferol, luteolin, apigenin), triterpenoid (lupeol, betulin), serta asam linoleat terbukti mampu meningkatkan jumlah osteoblas melalui stimulasi osteoblastogenesis dan perbaikan keseimbangan remodeling tulang pada kondisi defisiensi estrogen (Al Mamun *et al.*, 2017). Senyawa quercetin dan luteolin berperan utama dalam menghambat aktivasi jalur NF- κ B dan MAPK, sehingga produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 dapat ditekan, yang pada kondisi ovariektomi biasanya meningkat dan memicu resorpsi

tulang (Li *et al.*, 2016). Kaempferol dan apigenin secara spesifik bekerja dengan menghambat ekspresi RANKL dan meningkatkan rasio OPG, sehingga mengurangi ikatan RANK–RANKL yang berperan dalam aktivasi osteoklas dan mempercepat resorpsi tulang (Trivedi *et al.*, 2018).

Selain itu, lupeol dan betulin sebagai golongan triterpenoid berperan dalam menghambat jalur inflamasi serta menekan aktivasi osteoklas melalui modulasi sinyal RANKL, sehingga aktivitas resorpsi tulang dapat ditekan dan memberikan peluang lebih besar bagi aktivitas osteoblas untuk meningkat (Siddiqui *et al.*, 2019). Asam linoleat juga berperan dalam menghambat produksi mediator inflamasi serta menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi, sehingga secara tidak langsung menekan aktivasi osteoklas dan mendukung pembentukan tulang baru (Watkins *et al.*, 2017). Secara keseluruhan, penghambatan jalur inflamasi oleh senyawa-senyawa tersebut menyebabkan penurunan ekspresi RANKL bebas, sehingga interaksi RANK–RANKL berkurang dan diferensiasi osteoklas dapat ditekan secara signifikan (Boyle *et al.*, 2020).

Senyawa flavonoid seperti quercetin, kaempferol, luteolin, dan apigenin juga bekerja sebagai antioksidan yang mampu menurunkan kadar reactive oxygen species (ROS), sehingga menghambat stres oksidatif yang dapat menyebabkan apoptosis osteoblas serta menurunkan ekspresi faktor osteogenik seperti Runx2 dan osterix (Domazetovic *et al.*, 2017). Selain itu, studi lain juga menunjukkan bahwa stres oksidatif dapat mengalihkan jalur Wnt/ β -catenin sehingga menurunkan osteoblastogenesis, sehingga penghambatan ROS oleh senyawa antioksidan menjadi sangat penting dalam menjaga fungsi sel tulang (García-Martínez *et al.*, 2023). Penurunan ROS karena stres oksidatif dapat menghambat diferensiasi

osteoblas dan mempercepat kerusakan sel tulang pada kondisi hipoestrogen (Manolagas, 2018). Dengan berkurangnya stres oksidatif, ekspresi gen osteogenik seperti Runx2 dan osterix meningkat kembali, sehingga diferensiasi dan aktivitas osteoblas menjadi lebih optimal (Zhang *et al.*, 2020).

Senyawa kaempferol dan apigenin juga berperan dalam meningkatkan aktivitas reseptor estrogen (ER α dan ER β) di jaringan tulang, sehingga membantu mengkompensasi kondisi defisiensi estrogen pasca ovariectomi dan meningkatkan aktivitas osteoblas (Sharma *et al.*, 2019). Aktivasi reseptor estrogen ini akan meningkatkan sekresi osteoprotegerin (OPG) dan menurunkan ekspresi RANKL, sehingga keseimbangan remodeling tulang bergeser ke arah pembentukan tulang (osteoblastogenesis) dibandingkan resorpsi tulang (Khosla *et al.*, 2018). Kombinasi mekanisme penghambatan inflamasi, penurunan ROS, serta modulasi jalur RANK/RANKL/OPG dan reseptor estrogen menjadi dasar utama peningkatan jumlah osteoblas akibat pemberian ekstrak *T. procumbens*.

Selain efek pada tulang, peningkatan berat badan yang sering diamati pada model ovariectomi juga dapat dipengaruhi oleh faktor lain seperti peningkatan asupan makanan, perubahan metabolisme energi, serta interaksi hormon metabolik seperti leptin dan insulin yang mengalami gangguan akibat defisiensi estrogen (Clegg *et al.*, 2017). Senyawa dalam *T. procumbens* juga berpotensi memperbaiki kondisi metabolik melalui efek antiinflamasi dan antioksidan, namun peningkatan berat badan tetap dapat terjadi karena pemulihan kondisi fisiologis dan peningkatan efisiensi metabolisme energi (Rogers *et al.*, 2021). Oleh karena itu, peningkatan osteoblas yang terjadi bersamaan dengan perubahan berat badan merupakan hasil dari mekanisme kompleks yang melibatkan interaksi antara sistem endokrin,

metabolisme energi, serta regulasi remodeling tulang secara simultan (Mauvais-Jarvis, 2018).

6.3 Ekstrak *T. procumbens* Menurunkan Jumlah Osteoklas Pada Tikus Wistar Pasca Ovariectomi.

Pada kelompok OVX+TP250 terjadi penurunan jumlah osteoklas dan tidak berbeda dengan kelompok OVX. Hal ini disebabkan karena dosis 250 mg/kgBB belum mampu memberikan efek antiosteoklastogenesis yang optimal dalam menekan aktivitas resorpsi tulang, sehingga aktivitas osteoklas masih relatif tinggi pada kondisi defisiensi estrogen (Liu *et al.*, 2020). Selain itu, proses osteoklastogenesis pada kondisi ovariectomi berlangsung sangat aktif akibat peningkatan ekspresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6, sehingga dosis rendah ekstrak *T. procumbens* kemungkinan belum cukup kuat untuk menekan mediator inflamasi tersebut secara maksimal (Compston *et al.*, 2019).

Pemberian ekstrak *T. procumbens* pada kelompok OVX+TP500 dan OVX+TP750 dalam penelitian ini terbukti mampu menurunkan jumlah osteoklas, yang disebabkan oleh kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid (quercetin, kaempferol, luteolin, apigenin), triterpenoid (lupeol, betulin), dan asam linoleat yang bekerja secara sinergis menghambat jalur utama osteoklastogenesis pada kondisi defisiensi estrogen (Deng *et al.*, 2024). Pada kondisi menopause atau ovariectomi, penurunan estrogen menyebabkan peningkatan aktivasi jalur inflamasi melalui aktivasi sel imun seperti makrofag dan limfosit T yang memicu peningkatan sitokin proinflamasi TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 yang berperan langsung dalam meningkatkan ekspresi RANKL (Wang *et al.*, 2024). Senyawa quercetin

dalam *T. procumbens* bekerja dengan menghambat aktivasi jalur NF- κ B dan AP-1, sehingga menekan ekspresi sitokin proinflamasi serta menghambat diferensiasi osteoklas yang diinduksi oleh RANKL (Wattel *et al.*, 2004) . Selain itu, quercetin juga menurunkan sinyal transduksi NF- κ B yang merupakan jalur kunci dalam pembentukan osteoklas, sehingga menghambat aktivasi gen osteoklastogenik seperti NFATc1 (Deng *et al.*, 2024) .

Kaempferol sebagai senyawa flavonoid utama bekerja dengan menghambat jalur TNF- α /NF- κ B serta PI3K/Akt, sehingga menekan diferensiasi dan aktivitas osteoklas serta mengurangi resorpsi tulang (Yu *et al.*, 2026) . Apigenin dan luteolin juga berperan dalam menghambat jalur inflamasi dengan menekan aktivasi MAPK (ERK, JNK, p38), sehingga mengurangi produksi sitokin proinflamasi dan menurunkan ekspresi RANKL pada osteoblas dan sel stromal (Wang *et al.*, 2024) . Lupeol dan betulin sebagai golongan triterpenoid bekerja dengan menghambat aktivasi sel imun dan produksi mediator inflamasi, sehingga secara tidak langsung menurunkan stimulasi osteoklas melalui penurunan ekspresi RANKL dan peningkatan osteoprotegerin (OPG) (Deng *et al.*, 2024) . Asam linoleat juga berkontribusi dalam menekan inflamasi dengan mengurangi produksi sitokin proinflamasi, sehingga menghambat jalur RANKL–RANK yang menjadi kunci diferensiasi osteoklas (Wang *et al.*, 2024) .

Penurunan jumlah sel osteoklas juga terjadi melalui penghambatan jalur stres oksidatif, di mana senyawa flavonoid seperti quercetin, luteolin, dan kaempferol berfungsi sebagai antioksidan yang menurunkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berperan dalam aktivasi osteoklastogenesis (Deng *et al.*, 2024) . ROS pada saat kondisi hipoestrogen, dapat mengaktifkan jalur NF- κ B dan MAPK,

sehingga mempercepat diferensiasi osteoklas, sehingga penurunan ROS akan menghambat jalur tersebut dan menekan aktivitas osteoklas (Wang *et al.*, 2024). Studi lain juga menunjukkan bahwa senyawa polifenol mampu menghambat pembentukan osteoklas dengan menekan ROS dan TNF- α , sehingga mengganggu sinyal osteoklastogenesis (Kyung *et al.*, 2008). Dengan demikian, kombinasi efek antiinflamasi dan antioksidan dari senyawa aktif *T. procumbens* menyebabkan penurunan aktivasi NF- κ B, penurunan ekspresi RANKL, serta peningkatan rasio OPG, sehingga menghambat ikatan RANK–RANKL dan diferensiasi osteoklas.

Selain itu, beberapa senyawa flavonoid dalam *T. procumbens* juga memiliki efek fitoestrogenik yang mampu meningkatkan aktivitas reseptor estrogen (ER α dan ER β) di jaringan tulang, sehingga menghambat peningkatan RANKL akibat defisiensi estrogen dan menekan aktivitas osteoklas (Deng *et al.*, 2024). Penelitian oleh Guo *et al* (2012) menunjukkan bahwa kaempferol merupakan senyawa fitoestrogen yang memiliki kemiripan struktur dengan estrogen dan mampu mengaktivasi reseptor estrogen (ER), sehingga berperan dalam proses diferensiasi sel tulang melalui jalur pensinyalan estrogen (Guo *et al.*, 2012). Aktivasi reseptor estrogen ini akan meningkatkan produksi OPG dan menurunkan rasio RANKL/OPG, sehingga menghambat pembentukan osteoklas dan resorpsi tulang sebagaimana terlihat pada mekanisme dalam gambar (Zhang *et al.*, 2025). Interaksi antara jalur inflamasi dan stres oksidatif juga membentuk *vicious cycle* yang memperkuat osteoklastogenesis, sehingga penghambatan kedua jalur tersebut oleh senyawa aktif menjadi kunci utama dalam menurunkan jumlah osteoklas (Wang *et al.*, 2024).

Di sisi lain, peningkatan berat badan yang sering terjadi pada model ovariectomi tidak hanya dipengaruhi oleh penurunan estrogen, tetapi juga oleh peningkatan asupan makanan, perubahan metabolisme energi, serta gangguan sensitivitas hormon metabolik seperti leptin dan insulin (Deng *et al.*, 2024) . Meskipun beberapa senyawa flavonoid memiliki efek memperbaiki metabolisme, peningkatan berat badan tetap dapat terjadi akibat pemulihan kondisi fisiologis dan peningkatan efisiensi penyimpanan energi setelah terapi herbal (Wang *et al.*, 2024) . Oleh karena itu, penurunan osteoklas akibat pemberian ekstrak *T. procumbens* merupakan hasil dari mekanisme multifaktorial yang melibatkan penghambatan jalur inflamasi, penurunan stres oksidatif, modulasi jalur RANK/RANKL/OPG, serta efek fitoestrogenik yang secara sinergis menekan resorpsi tulang.

6.4 Ekstrak *T. procumbens* Dapat Membantu Remodeling Jaringan Tulang

Ekstrak *T. procumbens* dalam penelitian ini terbukti dapat membantu proses remodeling jaringan tulang melalui pengaruhnya terhadap keseimbangan antara aktivitas osteoblas dan osteoklas, yang merupakan dua komponen utama dalam homeostasis tulang. Remodeling tulang merupakan proses dinamis yang melibatkan resorpsi tulang oleh osteoklas dan pembentukan tulang baru oleh osteoblas, yang diatur oleh berbagai jalur molekuler seperti sistem RANK–RANKL–OPG, Wnt/ β -catenin, serta mediator hormonal dan sitokin (Khosla *et al.*, 2020). Pada kondisi defisiensi estrogen seperti pasca-ovariectomi, terjadi peningkatan aktivitas osteoklas dan penurunan aktivitas osteoblas akibat peningkatan ekspresi RANKL, penurunan osteoprotegerin (OPG), serta peningkatan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6, yang menyebabkan ketidakseimbangan remodeling tulang ke arah resorpsi (Compston *et al.*, 2019).

Pemberian ekstrak *T. procumbens* mampu memperbaiki ketidakseimbangan melalui kandungan senyawa bioaktifnya, terutama flavonoid seperti quercetin, kaempferol, luteolin, dan apigenin, serta senyawa fenolik seperti chlorogenic acid dan caffeic acid, yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi kuat. Senyawa-senyawa ini bekerja dengan menekan aktivasi jalur RANKL dan menghambat ekspresi faktor transkripsi osteoklastogenesis seperti NF- κ B dan NFATc1, sehingga mengurangi pembentukan dan aktivitas osteoklas (Chen *et al.*, 2018; Adhikary *et al.*, 2018). Selain itu, flavonoid juga mampu meningkatkan ekspresi OPG, yang berfungsi sebagai reseptor umpan (decoy receptor) untuk menghambat interaksi RANK-RANKL, sehingga menekan resorpsi tulang (Shalaby *et al.*, 2019).

Ekstrak *T. procumbens* juga berperan dalam meningkatkan aktivitas osteoblas melalui aktivasi jalur osteogenik seperti Wnt/ β -catenin dan BMP-2, yang berkontribusi dalam meningkatkan ekspresi gen osteoblastik seperti RUNX2, osteocalcin, dan alkaline phosphatase (ALP), sehingga meningkatkan diferensiasi dan mineralisasi tulang (Almeida *et al.*, 2017). Senyawa seperti quercetin dan kaempferol diketahui secara spesifik mampu merangsang proliferasi dan diferensiasi osteoblas, serta meningkatkan deposisi matriks tulang melalui peningkatan aktivitas ALP dan produksi kolagen tipe I (Trzeciakiewicz *et al.*, 2010). Selain itu, senyawa fenolik seperti chlorogenic acid berperan dalam melindungi osteoblas dari stres oksidatif dengan menurunkan produksi *reactive oxygen species* (ROS), yang merupakan faktor penting dalam apoptosis sel tulang pada kondisi defisiensi estrogen (Liu *et al.*, 2020).

Efek remodeling tulang oleh *T. procumbens* juga dipengaruhi oleh kemampuannya dalam menekan respon inflamasi sistemik yang meningkat setelah ovariectomi. Senyawa antiinflamasi dalam ekstrak ini mampu menurunkan kadar sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6, yang diketahui berperan dalam meningkatkan osteoklastogenesis dan menghambat osteoblastogenesis (Khosla *et al.*, 2020). Selain itu, aktivitas antioksidan yang tinggi membantu menjaga keseimbangan dalam jaringan tulang, sehingga mendukung lingkungan mikro yang optimal untuk proses pembentukan tulang (Almeida *et al.*, 2017).

Dengan demikian, ekstrak *T. procumbens* membantu remodeling jaringan tulang melalui mekanisme yang terintegrasi, yaitu dengan menekan aktivitas osteoklas melalui jalur RANK–RANKL, meningkatkan aktivitas osteoblas melalui jalur Wnt/ β -catenin dan BMP-2, serta mengurangi stres oksidatif dan inflamasi yang menjadi faktor utama kerusakan tulang. Kombinasi efek ini menjadikan *T. procumbens* berpotensi sebagai agen terapeutik alami dalam memperbaiki keseimbangan remodeling tulang pada kondisi osteoporosis pasca-menopause.

Penelitian ini memiliki keterbatasan karena parameter yang diamati hanya terbatas pada jumlah osteoblas dan osteoklas melalui pengamatan histologis. Padahal, proses remodeling tulang merupakan proses kompleks yang tidak hanya melibatkan jumlah sel, tetapi juga fungsi dan aktivitasnya, serta dipengaruhi oleh parameter lain seperti kepadatan mineral tulang (*Bone Mineral Density*), mikroarsitektur tulang, dan penanda biokimia tulang seperti alkaline phosphatase, osteocalcin, dan CTX. Keterbatasan tersebut mengakibatkan hasil penelitian belum mampu merepresentasikan kondisi remodeling tulang secara menyeluruh.

Selain itu, penelitian ini tidak mengukur kadar estrogen dalam darah setelah ovariectomi maupun setelah pemberian ekstrak *T. procumbens*. Estrogen merupakan faktor utama dalam regulasi keseimbangan antara osteoblas dan osteoklas melalui berbagai mekanisme, termasuk pengaturan jalur RANK–RANKL–OPG dan sitokin inflamasi. Tanpa adanya data kadar estrogen, hubungan antara efek ovariectomi, pemberian ekstrak, dan perubahan pada sel tulang menjadi kurang kuat secara kausal.

Keterbatasan lainnya adalah tidak dilakukannya analisis mekanisme molekuler serta identifikasi kandungan senyawa aktif dalam ekstrak yang digunakan. Penelitian ini belum mengevaluasi ekspresi gen atau jalur pensinyalan penting seperti RUNX2, BMP-2, Wnt/ β -catenin, maupun rasio RANKL/OPG, sehingga mekanisme kerja ekstrak hanya didasarkan pada teori dari literatur. Selain itu, tidak adanya analisis kuantitatif terhadap senyawa aktif menyebabkan belum diketahui secara pasti komponen mana yang paling berperan dalam meningkatkan osteoblas dan menurunkan osteoklas, sehingga diperlukan penelitian lanjutan yang lebih komprehensif

BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh serta uraian pembahasan sebelumnya, dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Ovariectomi pada tikus Wistar terbukti dapat menurunkan jumlah osteoblas dan meningkatkan jumlah osteoklas tulang femur tikus Wistar.
2. Pemberian ekstrak *T. procumbens* bisa meningkatkan jumlah osteoblas di tulang femur tikus Wistar pasca ovariectomi.
3. Pemberian ekstrak *T. procumbens* bisa menurunkan jumlah osteoklas di tulang femur tikus Wistar pasca ovariectomi.
4. Ekstrak *T. procumbens* membantu perbaikan remodeling tulang pada tikus Wistar model menopause akibat defisiensi estrogen.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, beberapa saran dapat diajukan sebagai bahan perbaikan untuk penelitian berikutnya :

1. Pengukuran kadar estrogen dalam darah setelah ovariectomi maupun setelah pemberian ekstrak *T. procumbens*.
2. Dapat dilakukan penelitian tentang *Molecular Docking* pada ligan senyawa *T. procumbens* terhadap Protein RANKL
3. Menganalisis rasio RANKL atau OPG pada jaringan tulang untuk memahami mekanisme pensinyalan yang mengatur diferensiasi osteoklas yang mungkin tidak terdeteksi pada pengamatan histomorfometri.

4. Melakukan uji toksisitas jangka panjang dan uji klinis terbatas untuk memastikan keamanan dan efikasi ekstrak *T. procumbens* sebagai anti osteoporosis.



DAFTAR PUSTAKA

- ACOG (2014) "Management of menopausal symptoms," *American Family Physician*, pp. 338–343. Available at: <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2014/0901/p338.html>.
- Aeffner, F. *et al.* (2018) "Digital Microscopy, Image Analysis, and Virtual Slide Repository," *ILAR Journal*, 59(1), pp. 66–79. Available at: <https://doi.org/10.1093/ilar/ily007>.
- Ali, E.A.M. *et al.* (2024) "iPSCs chondrogenic differentiation for personalized regenerative medicine: a literature review," *Stem Cell Research & Therapy*, 15(1), p. 185. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13287-024-03794-1>.
- Alimuddin, S.M., Faridah, N. and Nuryati, S.N. (2019) "Behavior, Histopathology and Physiological Responses of Rat Fed Diets Containing Growth Hormone Transgenic Fish Meal," *H A Y A T I Journal of Biosciences*, 26(1), pp. 1–6. Available at: <https://doi.org/10.4308/hjb.26.1.1>.
- Almeida, M. *et al.* (2013) "stimulates cortical bone accrual Estrogen receptor- α signaling in osteoblast progenitors stimulates cortical bone accrual," *JCI The Journal of Clinical Investigation*, 123(1), pp. 394–404. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI65910.394>.
- Almeida, Maria *et al.* (2025) "Estrogens and androgens in skeletal physiology and pathophysiology," pp. 135–187. Available at: <https://doi.org/10.1152/physrev.00033.2015>.
- Anand, A. *et al.* (2025) "Nutrient Artery Canal of Femur Masquerading a Fracture

Line: A Case Report,” *Cureus*, 17(5). Available at:
<https://doi.org/10.7759/cureus.84306>.

Andry, M. *et al.* (2025) “The Effect of Different Methods of Maceration and Microwave Assisted Extraction (MAE) on Determining Flavonoid Contents of Total Figs (*Ficus racemosa* L),” *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, pp. 799–809. Available at: <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i2.859>.

Anjum, J. *et al.* (2024) “Exploration of the GLUT-4 Modulation Potential of *Gynura procumbens* as a Mechanism Behind its Antidiabetic Activity,” *Biomedical and Pharmacology Journal*, 17(4), pp. 2759–2768. Available at: <https://doi.org/10.13005/bpj/3066>.

Ansari, M.Y., Ahmad, N. and Haqqi, T.M. (2020) “Oxidative stress and inflammation in osteoarthritis pathogenesis: Role of polyphenols,” *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 129, p. 110452. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110452>.

Ariyadi, T. and Suryono, H. (2017) “Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave dan Conventional Histoprocessing Pewarnaan Hematoxylin Eosin,” *Jurnal Labora Medika*, 1, pp. 7–11. Available at: https://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JLabMed/article/view/2393/0?utm_source.

Ashvini A Wagh, Prof. Gargi Kirloskar, Kaveri Dhanwate, K.D. (2024) “A Review on Medicinal Importance of Tridax,” (November). Available at: <https://doi.org/10.22214/ijraset.2024.65187>.

- Bell, N.H. (2003) "RANK ligand and the regulation of skeletal remodeling," *Journal of Clinical Investigation*, 111(8), pp. 1120–1122. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI18358>.
- Bellido, T. (2024) "Bisphosphonates for osteoporosis: from bench to clinic," *Journal of Clinical Investigation*, 134(6). Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI179942>.
- Bera, A. and Banerjee, N. (2023) "Estimation of Total Phenolic and Flavonoid content , Antibacterial and Antioxidant Potential of *Tridax procumbens* Linn . from Paschim Medinipur," 15(5), pp. 933–936.
- Berlin Grace, V.M. *et al.* (2020) "Significant action of *Tridax procumbens* L. leaf extract on reducing the TNF- α and COX-2 gene expressions in induced inflammation site in Swiss albino mice," *Inflammopharmacology*, 28(4), pp. 929–938. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10787-019-00634-0>.
- Bhattarai, H.K. *et al.* (2020) "Vitamin D, Calcium, Parathyroid Hormone, and Sex Steroids in Bone Health and Effects of Aging," *Journal of Osteoporosis*, 2020, pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1155/2020/9324505>.
- Black, D.M. and Rosen, C.J. (2016) "Postmenopausal Osteoporosis," *New England Journal of Medicine*. Edited by C.G. Solomon, 374(3), pp. 254–262. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMcp1513724>.
- Blair, H.C. and Larroure, Q.C. (2017) "Osteoblast Differentiation and Bone Matrix Formation," 23(3), pp. 268–280. Available at: <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2016.0454>.

Bolamperti, S., Villa, I. and Rubinacci, A. (2022) “Bone remodeling: an operational process ensuring survival and bone mechanical competence,” *Bone Research*, 10(1), p. 48. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41413-022-00219-8>.

Bonewald, L.F. (2011) “The amazing osteocyte,” *Journal of Bone and Mineral Research*, 26(2), pp. 229–238. Available at: <https://doi.org/10.1002/jbmr.320>.

Breeland, G., Sinkler, MA., Menezes, R. (2023) “Embryology, bone ossification,” *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing* [Preprint]. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539718/>.

Chang, B. and Liu, X. (2022) “Osteon: Structure, Turnover, and Regeneration,” *Tissue Engineering - Part B: Reviews*, 28(2), pp. 261–278. Available at: <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2020.0322>.

Chen, M.J. *et al.* (2021) “Impact on periosteal vasculature after dual plating of the distal femur: a cadaveric study,” *OTA International: The Open Access Journal of Orthopaedic Trauma*, 4(2), p. e131. Available at: <https://doi.org/10.1097/OI9.0000000000000131>.

Chen, Q. and Zhang, Y. (2022) “The Role of NPY in the Regulation of Bone Metabolism,” *Frontiers in Endocrinology*, 13(February), pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.833485>.

Cheng, C.-H., Chen, L.-R. and Chen, K.-H. (2022) “Osteoporosis Due to Hormone Imbalance: An Overview of the Effects of Estrogen Deficiency and Glucocorticoid Overuse on Bone Turnover,” *International Journal of*

Molecular Sciences, 23(3), p. 1376. Available at:
<https://doi.org/10.3390/ijms23031376>.

Cremers, S. *et al.* (2019) “Pharmacology of bisphosphonates,” *British Journal of Clinical Pharmacology*, 85(6), pp. 1052–1062. Available at:
<https://doi.org/10.1111/bcp.13867>.

Crumbie, L. (2023) “Bone histology: osteoblasts and osteoclasts,” *Kenhub* [Preprint]. Available at:
<https://www.kenhub.com/en/library/anatomy/histology-of-bone>.

Cummings, S.R. *et al.* (2009) “Denosumab for Prevention of Fractures in Postmenopausal Women with Osteoporosis,” *New England Journal of Medicine*, 361(8), pp. 756–765. Available at:
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa0809493>.

D’arrigo, G. *et al.* (2021) “Binding of androgen-and estrogen-like flavonoids to their cognate (Non)nuclear receptors: A comparison by computational prediction,” *Molecules*, 26(6). Available at:
<https://doi.org/10.3390/molecules26061613>.

Dai, R. *et al.* (2020) “Cathepsin K : The Action in and Beyond Bone,” 8(June), pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00433>.

Debeturu, S. *et al.* (2022) “Uji Aktivitas Analgesik Ekstrak Etanol Daun Songgolangit (*Tridax procumbens* L.) Terhadap Tikus Putih (*Rattus norvegicus*),” *Biofarmasetikal Tropis*, 5(1), pp. 66–72. Available at:
<https://doi.org/10.55724/jbiofartrop.v5i1.371>.

- DeGregorio, M., Wurz, G. and Kao, C.-J. (2014) "Safety and efficacy of ospemifene for the treatment of dyspareunia associated with vulvar and vaginal atrophy due to menopause," *Clinical Interventions in Aging*, 20(11), p. 1939. Available at: <https://doi.org/10.2147/CIA.S73753>.
- Dempster, D.W. *et al.* (2013) "Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: A 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee," *Journal of Bone and Mineral Research*, 28(1), pp. 2–17. Available at: <https://doi.org/10.1002/jbmr.1805>.
- Donnaloja, F. *et al.* (2020) "Natural and Synthetic Polymers for Bone Scaffolds Optimization," *polymers Review*, pp. 1–27.
- Duralde, E.R., Sobel, T.H. and Manson, J.E. (2023) "Management of perimenopausal and menopausal symptoms," *BMJ*, 382, p. e072612. Available at: <https://doi.org/10.1136/bmj-2022-072612>.
- Eastell, R. *et al.* (2016) "Postmenopausal osteoporosis," *Nature Reviews Disease Primers*, 2(1), p. 16069. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.69>.
- Edwards, B.J. *et al.* (2008) "Secondary contributors to bone loss in osteoporosis related hip fractures," *Osteoporosis International*, 19(7), pp. 991–999. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00198-007-0525-7>.
- Eggert, S. *et al.* (2017) "Image-Based Histological Evaluation of Scaffold-Free 3D Osteoblast Cultures," *Journal of Functional Morphology and Kinesiology*, 2(4), p. 42. Available at: <https://doi.org/10.3390/jfmk2040042>.

El-masri, B.M. *et al.* (2024) “Mapping RANKL- and OPG-expressing cells in bone tissue: the bone surface cells as activators of osteoclastogenesis and promoters of the denosumab rebound effect,” *Bone Research*, (July), pp. 1–21. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41413-024-00362-4>.

Elaine Yu, S.S. (2023) “Physiology, Calcium,” *NCBI Bookshelf*, 3. Available at: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482128/?utm_source=.

Ena, G. and Soyfoo, M. (2025) “Postmenopausal Osteoporosis: From Molecular Pathways to Therapeutic Targets—A Mechanism-to-Practice Framework Integrating Pharmacotherapy, Fall Prevention, and Adherence into Patient-Centered Care,” *Journal of Clinical Medicine*, 15(1), p. 102. Available at: <https://doi.org/10.3390/jcm15010102>.

Faisal, H. *et al.* (2023) “AKTIVITAS ANTI OKSIDAN DAN EVALUASI SEDIAAN MASKER PEEL-OFF EKSTRAK ETANOL RIMPANG KUNYIT PUTIH (*Curcuma zedoaria* Roscoe,” *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 6(1), pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.29313/jiff.v6i1.9085>.

Federici, S. *et al.* (2024) “Primary ovarian insufficiency: update on clinical and genetic findings,” *Frontiers in Endocrinology*, 15(September). Available at: <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1464803>.

Flückiger, O. *et al.* (2025) “Women’s Self-Assessment of Quality of Life and Menopausal Symptoms: An Online Survey of 26,000 Women in German-Speaking Countries,” *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 22(10), p. 1502. Available at:

<https://doi.org/10.3390/ijerph22101502>.

Fuentes, N. *et al.* (2019) “Estrogen receptor signaling mechanisms,” (Figure 1), pp. 1–30. Available at: <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2019.01.001.Estrogen>.

Ganesan, K., Goyal, A. and Roane, D. (2023) “Bisphosphonate.” Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK470248/>.

Ghasemi, A., Jeddi, S. and Kashfi, K. (2021) “the Laboratory Rat: Age and Body Weight Matter,” *EXCLI Journal*, 20, pp. 1431–1445. Available at: <https://doi.org/10.17179/excli2021-4072>.

Graham, S. *et al.* (2022) “Review of menopausal hormone therapy with estradiol and progesterone versus other estrogens and progestins,” *Gynecological Endocrinology*, 38(11), pp. 891–910. Available at: <https://doi.org/10.1080/09513590.2022.2118254>.

Guo, A.J. *et al.* (2012) “Kaempferol as a flavonoid induces osteoblastic differentiation via estrogen receptor signaling,” *Chinese Medicine*, 7(1), p. 10. Available at: <https://doi.org/10.1186/1749-8546-7-10>.

Hall, J.E. and Hall, M.E. (2025) “Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology,” *Philadelphia: Elsevier Health Sciences 15th* [Preprint]. Available at: <https://www.elsevier-elibrary.com/product/guyton-hall-textbook-medical-physiology83474>.

Hart, N.H. *et al.* (2020) “Biological basis of bone strength : anatomy , physiology and measurement,” *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 20(3), pp. 347–371.

- Hashem, J.S. *et al.* (2025) “Diversity of estrogen biodegradation pathways and application in environmental bioremediation,” (September). Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1630636>.
- Hayati, S. and Sansuwito, T. Bin (2025) “Genitourinary Syndrome of Menopause : A Systematic Review,” XXVI, pp. 846–853. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.70135/seejph.vi.3847>.
- Hertanto, R. and Surya, R. (2025) “Delites TM supplementation prevents metabolic syndrome onset and modulates gut microbiome in male Sprague Dawley rats fed on cholesterol- and fat-enriched diet : a randomized preclinical trial study,” (April), pp. 1–14. Available at: <https://doi.org/10.3389/fnut.2025.1571473>.
- Hicks, A. *et al.* (2025) “Safety of menopause hormone therapy in postmenopausal women at higher risk of venous thromboembolism: a systematic review,” *Climacteric*, 28(5), pp. 497–509. Available at: <https://doi.org/10.1080/13697137.2025.2503874>.
- Hohenschurz-schmidt, D. *et al.* (2023) “relating methods to trial results,” 164(3).
- Hong, G. *et al.* (2021) “A novel RANKL-targeted flavonoid glycoside prevents osteoporosis through inhibiting NFATc1 and reactive oxygen species,” *Clinical and Translational Medicine*, 11(5). Available at: <https://doi.org/10.1002/ctm2.392>.
- Hunter, M.S. (2021) “Cognitive behavioral therapy for menopausal symptoms,” *Climacteric*, 24(1), pp. 51–56. Available at: <https://doi.org/10.1080/13697137.2020.1777965>.

- Ikeda, Y. *et al.* (2023) “Modeling of intramembranous ossification using human pluripotent stem cell-derived paraxial mesoderm derivatives,” *Regenerative Therapy*, 24, pp. 536–546. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.reth.2023.09.017>.
- Imran, M. *et al.* (2022) “Prevalence of osteoporosis and associated risk factors among postmenopausal women: A cross-sectional study from Northern India,” *Journal of Mid-Life Health*, 13(3), pp. 206–212. Available at: https://doi.org/10.4103/jmh.jmh_114_22.
- Ingole, V. V, Mhaske, P.C. and Katade, S.R. (2022) “Phytomedicine Plus Phytochemistry and pharmacological aspects of *Tridax procumbens* (L.): A systematic and comprehensive review,” *Phytomedicine Plus*, 2(1), p. 100199. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100199>.
- Irsik, D.L., Bollag, W.B. and Isales, C.M. (2021) “Renal Contributions to Age-Related Changes in Mineral Metabolism,” *JBMR Plus*, 5(10). Available at: <https://doi.org/10.1002/jbm4.10517>.
- Jangid, T. *et al.* (2025) “A comprehensive review on traditional uses , phytochemical constituents , and pharmacological properties of *Tridax procumbens*,” 14(4), pp. 223–246. Available at: <https://doi.org/10.31254/phyto.2025.14403>.
- Jiang, J., Ren, R. and Fang, W. (2024) “Lysosomal biogenesis and function in osteoclasts : a comprehensive review,” (August), pp. 1–18. Available at: <https://doi.org/10.3389/fcell.2024.1431566>.
- Juliati (2017) “Gambaran Mikroskopis Ca Mammae Yang Difiksasi Dengan BNF

10% Dan Alkohol 70% Pada Pewarnaan Hematoxylin - Eosin (HE),”
Skripsi. Universitas Muhammadiyah Semarang [Preprint].

Jung-Min Kim, Chujiao Lin, Z.S., And, M.B.G. and Shim, J.-H.S. (2020)
“Osteoblast-Osteoclast Communication and Bone Homeostasis,” pp. 1–14.

Kamel-ElSayed, S.A., Nezwik, T.A. & Varacallo, M.A. (2024) “Physiology,
Bone,” *StatPearls Publishing* [Preprint]. Available at:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441968/>.

Kapoor, E. (2023) “Premature ovarian insufficiency,” *Current Opinion in
Endocrine and Metabolic Research*, 28, p. 100435. Available at:
<https://doi.org/10.1016/j.coemr.2023.100435>.

Karlafti, E. *et al.* (2019) “Effect of estrogen on bone cells : what is new ?,” *Journal
of Research and Practice on the Musculoskeletal System*, (May), pp. 113–
122. Available at: <https://doi.org/10.22540/JRPMS-03-113>.

Kemenkes (2023) “Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tatalaksana
Osteoporosis,” *Pusat Data Dan Informasi Kementrian Kesehatan RI*, pp. 1–
12. Available at:
[https://pusdatin.kemkes.go.id/article/view/21051100002/situasi-
osteoporosis-di-indonesia.html](https://pusdatin.kemkes.go.id/article/view/21051100002/situasi-osteoporosis-di-indonesia.html).

Krum, S.A. *et al.* (2008) “Estrogen protects bone by inducing Fas ligand in
osteoblasts to regulate osteoclast survival,” *The EMBO Journal*, 27(3), pp.
535–545. Available at: <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601984>.

Kumar, K. *et al.* (2017) “A simple 2D composite image analysis technique for the

crystal growth study of L-ascorbic acid,” *Microscopy Research and Technique*, 80(6), pp. 615–626. Available at: <https://doi.org/10.1002/jemt.22838>.

Kumar, S. and Pandey, A.K. (2013) “Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview,” *The Scientific World Journal*. Edited by K.P. Lu and J. Sastre, 2013(1). Available at: <https://doi.org/10.1155/2013/162750>.

Le, B.Q. *et al.* (2017) “The Components of bone and what they can teach us about regeneration,” *Materials*, 11(1), pp. 1–16. Available at: <https://doi.org/10.3390/ma11010014>.

Lee, K.I.-R., Chen, J.-H. and Chen, K.-H. (2026) “Osteoporosis After Menopause and After Drug Therapy: The Molecular Mechanism of Bone Loss and Its Treatment,” *International Journal of Molecular Sciences*, 27(2), p. 641. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms27020641>.

Lin, X. *et al.* (2020) “The Bone Extracellular Matrix in Bone Formation and Regeneration,” 11(May), pp. 1–15. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00757>.

López, J.M. (2024) “Bone Development and Growth,” *International Journal of Molecular Sciences*, 25(12), p. 6767. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms25126767>.

Luo, J. *et al.* (2025) “Oxidative stress and inflammation : roles in osteoporosis,” *Frontiers in Immunology*, (August), pp. 1–20. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1611932>.

- Luo, Y. and Amromanoh, O. (2021) “Bone Organic-Inorganic Phase Ratio Is a Fundamental Determinant of Bone Material Quality,” *Applied Bionics and Biomechanics*, 2021. Available at: <https://doi.org/10.1155/2021/4928396>.
- Madsen, E. *et al.* (2020) “Review on Material Parameters to Enhance Bone Cell Function in vitro and in vivo,” *HHS Public Access*, 48(5), pp. 2039–2050. Available at: <https://doi.org/10.1042/BST20200210.Review>.
- Malhan, D. *et al.* (2018) “An Optimized Approach to Perform Bone Histomorphometry,” *Frontiers in Endocrinology*, 9. Available at: <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00666>.
- Mamun, A. Al *et al.* (2019) “Tridax Procumbens Flavonoids Stimulated Synergistic Effects on BMP-2-Induced Bone Regeneration in Critical-Sized of Calvarial Defect,” 6.
- Mamun, M.A. *et al.* (2020) “Flavonoids compounds from Tridax procumbens inhibit osteoclast differentiation by down-regulating c-Fos activation,” *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 24(4), pp. 2542–2551. Available at: <https://doi.org/10.1111/jcmm.14948>.
- Al Mamun, M.A. *et al.* (2015) “Flavonoids isolated from Tridax procumbens (TPF) inhibit osteoclasts differentiation and bone resorption,” *Biological Research*, 48(1), p. 51. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40659-015-0043-6>.
- Al Mamun, M.A. *et al.* (2017) “Tridax procumbens flavonoids: A prospective bioactive compound increased osteoblast differentiation and trabecular bone formation,” *Biological Research*, 50(1). Available at:

<https://doi.org/10.1186/s40659-017-0134-7>.

Mansour A., Mezour MA, Badran Z., T.F. (2017) “Extracellular Matrices for Bone Regeneration: A Literature Review,” pp. 1436–1451. Available at: <https://doi.org/10.1089>.

Marahleh, A. *et al.* (2025) “Recent Advances in the Role of Osteocytes in Orthodontic Tooth Movement,” *International Journal of Molecular Sciences*, 26(19), p. 9396. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms26199396>.

Medina-Contreras, J. *et al.* (2020) “Ovariectomized rodents as a menopausal metabolic syndrome model. A minireview,” *Molecular and Cellular Biochemistry*, 475(1–2), pp. 261–276. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11010-020-03879-4>.

Meeta, M. *et al.* (2020) “Clinical practice guidelines on postmenopausal osteoporosis: *An executive summary and recommendations – Update 2019–2020,” *Journal of Mid-life Health*, 11(2), p. 96. Available at: https://doi.org/10.4103/jmh.JMH_143_20.

Mehreen, A. *et al.* (2025) “Connecting Bone Remodeling and Regeneration: Unraveling Hormones and Signaling Pathways,” *Biology*, 14(3), p. 274. Available at: <https://doi.org/10.3390/biology14030274>.

Mescher, A.L. (2023) *Junqueira’s Basic Histology: Text and Atlas*. 17th editi. New York: McGraw Hill Medical.

Miller, P.D. *et al.* (2016) “Denosumab or Zoledronic Acid in Postmenopausal

Women With Osteoporosis Previously Treated With Oral Bisphosphonates,” *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(8), pp. 3163–3170. Available at: <https://doi.org/10.1210/jc.2016-1801>.

Mohebby, R. *et al.* (2023) “Exercise training and bone mineral density in postmenopausal women: an updated systematic review and meta-analysis of intervention studies with emphasis on potential moderators,” *Osteoporosis International*, 34(7), pp. 1145–1178. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00198-023-06682-1>.

Morin, S.N., Leslie, W.D. and Schousboe, J.T. (2025) “Osteoporosis,” *JAMA*, 334(10), p. 894. Available at: <https://doi.org/10.1001/jama.2025.6003>.

Motlani, V. *et al.* (2023) “Changed Endocrinology in Postmenopausal Women: A Comprehensive View,” *Cureus*, 15(12). Available at: <https://doi.org/10.7759/cureus.51287>.

Mou, H. *et al.* (2025) “Effects of key physiological parameters on cardiovascular disease and osteoporosis risk in perimenopausal and postmenopausal women,” *Scientific Reports*, 15(1), p. 2814. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-86613-8>.

Muhammad, A. *et al.* (2025) “Estradiol Reverses Ovariectomy-Induced Disruption of Hypothalamic Gene Expression and Behavior via Modulation of Gonadotropin Releasing Hormone and Calcium Signaling Pathways,” *Animals*, 15(10). Available at: <https://doi.org/10.3390/ani15101467>.

Muhammad, Y.A. (2025) “Reproductive aging in biological females: mechanisms and immediate consequences,” *Frontiers in Endocrinology*, 16. Available

at: <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1658592>.

Mukherjee, A. and Davis, S.R. (2025) "Update on Menopause Hormone Therapy; Current Indications and Unanswered Questions," *Clinical Endocrinology* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1111/cen.15211>.

Nahian, A. & Davis, D.D. (2020) "Histology, Osteoprogenitor Cells," *StatPearls*, pp. 2–5. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559160/>.

Nakai, Y., Ono, W. and Ono, N. (2025) "Bone marrow endosteum in homeostasis and metastasis," *Open Biology*, 15(10), pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.1098/rsob.250103>.

NAMS (2017) "The 2017 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society," *Menopause*, 24(7), pp. 728–753. Available at: <https://doi.org/10.1097/GME.0000000000000921>.

Di Naro, E. *et al.* (2021) "The Effect of Menopause Hypoestrogenism on Osteogenic Differentiation of Periodontal Ligament Cells (PDL) and Stem Cells (PDLs): A Systematic Review," *Healthcare*, 9(5), p. 572. Available at: <https://doi.org/10.3390/healthcare9050572>.

Nedrow, A., & Miller, J.E. (2024) "Menopause: Treatment & Management," *In StatPearls* [Preprint]. Available at: <https://www.statpearls.com/point-of-care/24984/>.

Nikam, M.A. *et al.* (2024) "Review on Tridax Procumbens," 6(5), pp. 1–15.

Panwar, P. *et al.* (2024) "Real-time analysis of osteoclast resorption and fusion

dynamics in response to bone resorption inhibitors,” *Scientific Reports*, 14(1), pp. 1–15. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-57526-9>.

Parfitt, A.M. *et al.* (1987) “Bone histomorphometry: Standardization of nomenclature, symbols, and units: Report of the asbmr histomorphometry nomenclature committee,” *Journal of Bone and Mineral Research*, 2(6), pp. 595–610. Available at: <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650020617>.

Peacock, K., Carlson, K. and M. Katvertis, K. (2023) *Menopause*, *StatPearls [Internet]*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507826/>.

Petchi, Rr., Vijaya, C. and Parasuraman, S. (2013) “Anti-arthritis activity of ethanolic extract of *Tridax procumbens* (Linn.) in Sprague Dawley rats,” *Pharmacognosy Research*, 5(2), p. 113. Available at: <https://doi.org/10.4103/0974-8490.110541>.

Prasetya, E. (2022) “Infiltrasi dan Embedding dalam Metode Parafin,” *Inovasi Biologi* [Preprint]. Available at: <https://inovasibiologi.com/infiltrasi-dan-embedding-dalam-metode-parafin/>.

Primasari, N.. (2019) “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kedelai Hitam (Glycine soja) Terhadap Struktur Ovarium dan Siklus Estrus Pada Mencit Ovariectomi Unilateral Strain Swiss Webster,” *Universitas Jember Repository* [Preprint]. Available at: <https://repository.unej.ac.id/handle/123456789/97859>.

Pun, M. *et al.* (2024) “Innervation of the hip joint: implications for regional anaesthesia and image-guided interventional pain procedures,”

24(February), pp. 191–202. Available at:
<https://doi.org/10.1016/j.bjae.2024.02.005>.

Rahmawanti, A., Setyowati, D.N. and Mukhlis, A. (2021) “Histopathological of Brain, Eye, Liver, Spleen Organs of Grouper Suspected VNN in Penyambuan Village, North Lombok,” *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), pp. 140–148. Available at: <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2439>.

Raj, A. *et al.* (2023) “The Impact of Menopause on Cardiovascular Aging: A Comprehensive Review of Androgen Influences,” *Cureus* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.7759/cureus.43569>.

Rani, J. *et al.* (2023) “Postmenopausal Osteoporosis: Menopause Hormone Therapy and Selective Estrogen Receptor Modulators,” *Indian Journal of Orthopaedics*, 57(s1), pp. 105–114. Available at: <https://doi.org/10.1007/s43465-023-01071-6>.

Rasul, S. *et al.* (2025) “Hormonal Changes During Menopause and Their Impact on Bone Health: Insights from Orthopedic and Reproductive Medicine,” *Cureus* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.7759/cureus.93224>.

Reid, I.R. (2015) “Efficacy, effectiveness and side effects of medications used to prevent fractures,” *Journal of Internal Medicine*, 277(6), pp. 690–706. Available at: <https://doi.org/10.1111/joim.12339>.

Rejeki, P.S., Putri, E.A.C. & Prasetya, R.E. (2019) *Ovariektomi pada Tikus dan Mencit*. Available at: <https://repository.unair.ac.id/94079/>.

Rico-Ilanos, G.A. *et al.* (2021) “Collagen Type I Biomaterials as Scaffolds for Bone

Tissue Engineering,” *polymers*, 13, p. 599. Available at:
<https://doi.org/10.3390>.

Rippe, J.M. (2018) “Lifestyle Medicine: The Health Promoting Power of Daily Habits and Practices,” *American Journal of Lifestyle Medicine*, 12(6), pp. 499–512. Available at: <https://doi.org/10.1177/1559827618785554>.

Rosa *et al.* (2025) “Bone : An Outstanding Composite Material,” pp. 1–13. Available at: <https://encyclopedia.pub/entry/22923>.

Rowe, P., Koller, A., Sharma, S. (2023) “Fisiologi, Remodeling Tulang,” *StatPearls* [Preprint]. Available at:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499863/>.

Ruckmani, A. *et al.* (2023) “Evaluation of Osteogenic property of methanolic extract of the root , leaf and whole plant of *Tridax procumbens* linn in Wistar albino rats,” 14(02), pp. 1996–2007. Available at:
<https://doi.org/10.47750/pnr.2023.14.S02.239>.

Russo, S., Scotto di Carlo, F. and Gianfrancesco, F. (2022) “The Osteoclast Traces the Route to Bone Tumors and Metastases,” *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10(May), pp. 1–15. Available at:
<https://doi.org/10.3389/fcell.2022.886305>.

Saag, K. (2024) “Osteoporosis for Rheumatologists: Latest Updates and Controversies,” *Journal of Clinical Rheumatology and Immunology*, 24(supp01), pp. 12–12. Available at:
<https://doi.org/10.1142/S2661341724740122>.

Scavello, I. *et al.* (2019) “Sexual Health in Menopause,” *Medicina*, 55(9), p. 559.

Available at: <https://doi.org/10.3390/medicina55090559>.

Scheinflug, J. *et al.* (2018) “Journey into Bone Models : A Review,” *Journey into*

Bone Models: A Review [Preprint]. Available at:

<https://doi.org/10.3390/genes9050247>.

Schlesinger, P.H. *et al.* (2025) “Cellular and extracellular matrix of bone , with principles of synthesis and dependency of mineral deposition on cell membrane transport,” (7). Available at:

<https://doi.org/10.1152/ajpcell.00120.2019>.

Schneider, C.A., Rasband, W.S. and Eliceiri, K.W. (2012) “NIH Image to ImageJ:

25 years of image analysis,” *Nature Methods*, 9(7), pp. 671–675. Available at: <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>.

Shabana, H.A., Gairola, S. and Mahmoud, T. (2020) “*Tridax procumbens* L . (Asterales Asteraceae), a new record to the flora of the United Arab Emirates,” 11(4), pp. 889–896.

Shan, D. *et al.* (2020) “Efficacy and safety of gabapentin and pregabalin in patients with vasomotor symptoms: a systematic review and meta-analysis,” *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 222(6), pp. 564-579.e12. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.12.011>.

Sherwood, L. (2016) *Human Physiology: From Cells to Systems*. 9th ed. Boston, MA. Available at:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmcatalog/101655752?utm_source.

- Shuid, Ahmad Naqib *et al.* (2021) “Osteoprotective Effects in Postmenopausal Osteoporosis Rat Model : Oral Tocotrienol vs . Intraosseous Injection of Acid Combination,” 12(November), pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.706747>.
- Simon, J.A. *et al.* (2013) “Low-dose paroxetine 7.5 mg for menopausal vasomotor symptoms,” *Menopause*, 20(10), pp. 1027–1035. Available at: <https://doi.org/10.1097/GME.0b013e3182a66aa7>.
- Sotoudeh, N. and Namavar, M.R. (2022) “Optimisation of ketamine-xylazine anaesthetic dose and its association with changes in the dendritic spine of CA1 hippocampus in the young and old male and female Wistar rats,” *Veterinary Medicine and Science*, 8(6), pp. 2545–2552. Available at: <https://doi.org/10.1002/vms3.936>.
- Sözen, T., Özışık, L. and Çalık Başaran, N. (2019) “An overview and management of osteoporosis,” *European Journal of Rheumatology*, 4(1), pp. 46–56. Available at: <https://doi.org/10.5152/eurjrheum.2016.048>.
- Šromová, V., Sobola, D. and Kaspar, P. (2023) “A Brief Review of Bone Cell Function and Importance,” *Cells*, 12(21). Available at: <https://doi.org/10.3390/cells12212576>.
- Stetsiv, M. *et al.* (2024) “Improved Methodology for Studying Postnatal Osteogenesis via Intramembranous Ossification in a Murine Bone Marrow Injury Model,” *Frontiers in Cell and Developmental Biology* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1101/2024.10.24.620082>.
- Streicher, C. *et al.* (2017) “Estrogen Regulates Bone Turnover by Targeting

RANKL Expression in Bone Lining Cells,” (June), pp. 1–14. Available at:
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-06614-0>.

Stuenkel, C.A. *et al.* (2015) “Treatment of Symptoms of the Menopause: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline,” *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100(11), pp. 3975–4011. Available at:
<https://doi.org/10.1210/jc.2015-2236>.

Stute, P. *et al.* (2024) “Progestogens for endometrial protection in combined menopausal hormone therapy: A systematic review,” *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 38(1), p. 101815. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2023.101815>.

Sugiarti, B.A.D., Februyani, N. and Saputri, R.K. (2023) “Uji Antioksidan Sediaan Suspensi Ekstrak Sereh Dapur (*Cymbopogon Citratus*) Dengan Variasi Konsentrasi Suspending Agent PGA (*Pulvis Gummi Arabici*) Dan CMC-NA (*Carboxymethylcellulosum Natrium*),” *Indonesian Journal of Health Science*, 3(2a), pp. 257–262. Available at:
<https://doi.org/10.54957/ijhs.v3i2a.497>.

Syam, Y., Noersasongko, D. and Sunaryo, H. (2014) “FRAKTUR AKIBAT OSTEOPOROSIS,” *e-CliniC*, 2(2). Available at:
<https://doi.org/10.35790/ec1.2.2.2014.4885>.

Tallitsch, R.B,& Guastaferrri, R. (2021) *Histology: An Identification Manual – Chapter 5: Specialized Connective Tissue: Bone*. Available at:
<https://pressbooks.pub/rbtallitsch/chapter/chapter-5-specialized-connective-tissue-bone/>.

- Tao, R. *et al.* (2023) “Hallmarks of peripheral nerve function in bone regeneration,” *Bone Research*, 11(1), p. 6. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41413-022-00240-x>.
- Tella, S.H. and Gallagher, J.C. (2014) “Prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis,” *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 142, pp. 155–170. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.09.008>.
- Thapa, S., Nandy, A. and Ali, D. (2022) “Endocrinal metabolic regulation on the skeletal system in post-menopausal women,” (November), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1052429>.
- Tortora, G.J. and Derrickson, B. (2014) *Principles of Anatomy and Physiology*, 14th Edition.
- Tzouma, G. *et al.* (2020) “Anatomic Variations of the Deep Femoral Artery and Its Branches: Clinical Implications on Anterolateral Thigh Harvesting,” *Cureus*, 12(4). Available at: <https://doi.org/10.7759/cureus.7867>.
- Vargas-Madriz, Á.F. *et al.* (2020) “Phenolic profile and antioxidant capacity of *Pithecellobium dulce* (Roxb) Benth: a review,” *Journal of Food Science and Technology*, 57(12), pp. 4316–4336. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04453-y>.
- Walker (2020) “Skeletal system 1: the anatomy and physiology of bones,” *Clinical Practice Systems of life*, 116(2), pp. 38–42.
- Wang, F. *et al.* (2022) “The role of bone marrow on the mechanical properties of

- trabecular bone: a systematic review,” *BioMedical Engineering Online*, 21(1), pp. 1–25. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12938-022-01051-1>.
- Wasi, M. and Lewis, K.J. (2025) “Intravital Microscopy of Osteocytes: A New Era in Bone Cell Biology,” *Current Osteoporosis Reports*, 23(1), p. 50. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11914-025-00942-1>.
- Watanabe, H. *et al.* (2023) “Skeletal-Vascular Interactions in Bone Development, Homeostasis, and Pathological Destruction,” *International Journal of Molecular Sciences*, 24(13), p. 10912. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms241310912>.
- Wawrzyniak, A. and Balawender, K. (2022) “Structural and Metabolic Changes in Bone,” *Animals* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.3390>.
- Weaver, C.M. *et al.* (2016) “The National Osteoporosis Foundation’s position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations,” *Osteoporosis International*, 27(4), pp. 1281–1386. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00198-015-3440-3>.
- Weitzmann, M.N. *et al.* (2006) “Review series Estrogen deficiency and bone loss : an inflammatory tale,” 116(5), pp. 1186–1194. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI28550.1186>.
- Weng, Y. *et al.* (2022) “A novel lineage of osteoprogenitor cells with dual epithelial and mesenchymal properties govern maxillofacial bone homeostasis and regeneration after MSFL,” (June). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41422-022-00687-x>.

WHO (2024) “Menopause,” *World Health Organization* [Preprint]. Available at:
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/menopause>.

Williams, M. and Maki, P.M. (2025) “A Review of Cognitive, Sleep, and Mood Changes in the Menopausal Transition,” *Obstetrics & Gynecology*, 146(3), pp. 350–359. Available at:
<https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000005914>.

Wu, T. *et al.* (2020) “Effect of Fenugreek on vasomotor symptoms in menopausal women,” *Medicine*, 99(23), p. e20526. Available at:
<https://doi.org/10.1097/MD.00000000000020526>.

Wu, Y. *et al.* (2025) “Osteocytes: master orchestrators of skeletal homeostasis, remodeling, and osteoporosis pathogenesis,” *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 13(September), pp. 1–12. Available at:
<https://doi.org/10.3389/fcell.2025.1670716>.

Wu, Z. *et al.* (2024) “Regulation of bone homeostasis : signaling pathways and therapeutic targets,” (June), pp. 1–38. Available at:
<https://doi.org/10.1002/mco2.657>.

Xia, W. and Khalil, R.A. (2025) “Hormone Replacement Therapy and Cardiovascular Health in Postmenopausal Women,” *International Journal of Molecular Sciences*, 26(11), p. 5078. Available at:
<https://doi.org/10.3390/ijms26115078>.

Xin, H. *et al.* (2023) “From Free Tissue Transfer to Hydrogels: A Brief Review of the Application of the Periosteum in Bone Regeneration,” *Gels*, 9(9), pp. 1–18. Available at: <https://doi.org/10.3390/gels9090768>.

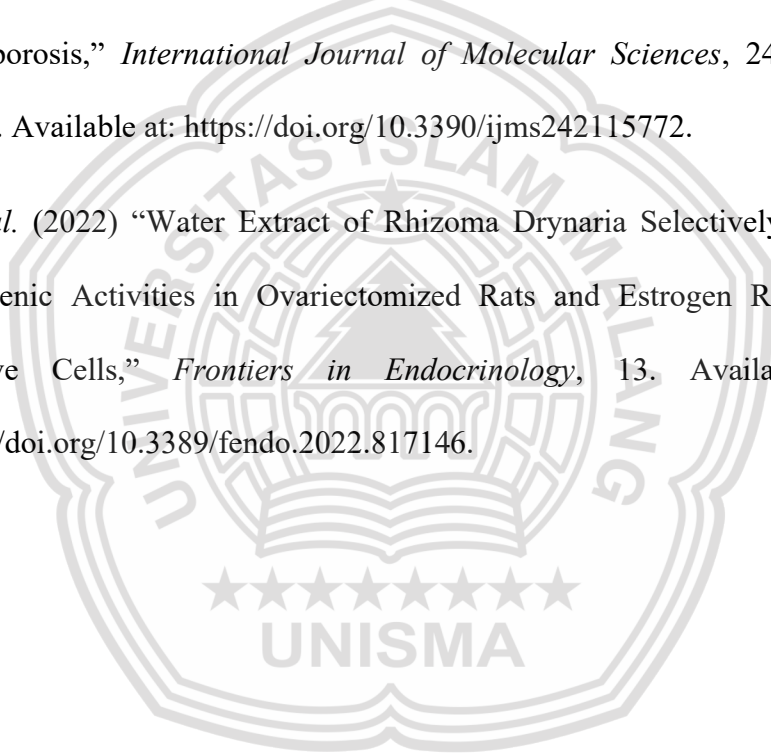
- Yahara, Y. *et al.* (2022) “The origins and roles of osteoclasts in bone development, homeostasis and repair,” *Development*, 149(8). Available at: <https://doi.org/10.1242/dev.199908>.
- Yang, D. *et al.* (2025) “crosstalk : signaling pathways governing bone remodeling in osteoporosis,” *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 9.
- Yang, J.L. *et al.* (2024) “Estrogen deficiency in the menopause and the role of hormone therapy: integrating the findings of basic science research with clinical trials,” *Menopause*, 31(10), pp. 926–939. Available at: <https://doi.org/10.1097/GME.0000000000002407>.
- Yang, J.L. *et al.* (2025) “Estrogen deficiency in the menopause and the role of hormone therapy: integrating the findings of basic science research with clinical trials,” 31(10), pp. 926–939. Available at: <https://doi.org/10.1097/GME.0000000000002407>.Estrogen.
- Yang, Y.-Q. *et al.* (2022) “Genetic Risk for Osteoporosis and the Benefit of Adherence to Healthy Lifestyles,” *International Journal of Public Health*, 67(3), p. 1376. Available at: <https://doi.org/10.3389/ijph.2022.1605114>.
- Yani, T.A. (2025) “Readiness Of Women Aged 45-55 Years In Facing The Menopause: A Literature Review,” *Journal of health research and technology*, 3(1), pp. 55–65. Available at: <https://doi.org/10.58439/jhrt.v3i1.289>.
- Yousefzadeh, N. *et al.* (2020) “Ovariectomized rat model of osteoporosis: A practical guide,” *EXCLI Journal*, 19, pp. 89–107. Available at: <https://doi.org/10.17179/excli2019-1990>.

Zalaudek, I. and Sabovi, E.K.M. (2024) “Treatment of menopausal skin – A narrative review of existing treatments , controversies , and future perspectives.” Available at: <https://doi.org/10.1177/20533691241233440>.

Zhang, J. *et al.* (2022) “The Role of Flavonoids in the Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells,” *Frontiers in Pharmacology*, 13. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.849513>.

Zhivodernikov, I. V. *et al.* (2023) “Molecular and Cellular Mechanisms of Osteoporosis,” *International Journal of Molecular Sciences*, 24(21), p. 15772. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms242115772>.

Zhou, L. *et al.* (2022) “Water Extract of Rhizoma Drynaria Selectively Exerts Estrogenic Activities in Ovariectomized Rats and Estrogen Receptor-Positive Cells,” *Frontiers in Endocrinology*, 13. Available at: <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.817146>.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Kelayakan Etik

KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
RUMAH SAKIT ISLAM MALANGSekretariat : Jl. MT. Haryono No. 139, Dinoyo, Lowokwaru, Kota Malang
Telp. 0341-551356, 580798, 565448 Ext. 179KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"

No.77/KEPK/RSI-U/X/2025

Protokol penelitian versi 1 yang diusulkan oleh :
*The research protocol proposed by***Peneliti utama** : dr. Erna Sulistyowati, M.Kes, PhD
*Principal In Investigator***Nama Institusi** : UNIVERSITAS ISLAM MALANG
*Name of the Institution*Dengan judul:
*Title***"Potensi ekstrak herba *Tridax procumbens* : Analisis Aktivitas Estrogen dan Anti-inflamasi Terhadap Tikus Wistar Betina Pasca Ovariektomi"***"Potensi ekstrak herba *Tridax procumbens* : Analisis Aktivitas Estrogen dan Anti-inflamasi Terhadap Tikus Wistar Betina Pasca Ovariektomi"*

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 28 Oktober 2025 sampai dengan tanggal 27 Oktober 2026.

This declaration of ethics applies during the period October 28, 2025 until October 27, 2026.

October 28, 2025
Chairperson,

dr.H.R.M.Hardadi Airlangga.Sp.PD.,MH.,CMC.,CCD

Anggota Peneliti : KRISNA RAFI ADINATA, DEVI FITRIANI, KRISNA WAHYUDI, RAGIL NUR WAHYUDI,
FARREL WIDYADHANA EZA PURWANTO dan INTAN KURNIAWATI STORY

Lampiran 2. Rencana Penelitian

No	Jenis Kegiatan	Bulan															
		Januari 2026				Februari 2026				Maret 2026				April 2026			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Persiapan alat-bahan																
2	Aklimatisasi																
3	Ovariectomi & Fase penyembuhan																
4	Perlakuan Hewan Coba																
5	Pengambilan Sampel Femur (Pembedahan)																
6	Pembuatan Preparat Histologi																
7	Analisa Hasil Penelitian																
8	Penulisan Jurnal																
9	Penulisan Tugas Akhir																

Lampiran 3. Surat Keterangan Penelitian



LABORATORIUM CENTRAL RISET & DIAGNOSTIK KLINIK HEWAN SATWA SEHAT MALANG

Jl. Dako No. 52, Tidar Malang | Nomor SIVET : 128.10000.340951.0001

SURAT KETERANGAN

Nomor : A.042/SK-IV/III/2025
Perihal : Surat Keterangan Penelitian

Saya yang bertandatangan di bawah ini, selaku Kepala Divisi Laboratorium Central Riset & Diagnostik Satwa Sehat Indonesia menerangkan bahwa,

Nama : Devi Fitriani
NIM : 22201101080
Jurusan : Pendidikan Dokter
Instansi : Universitas Islam Malang
Alamat : Jl. Mayjen Haryono No. 193, Dinoyo, Kec. Lowokwaru, Kota Malang

Dengan ini menyatakan yang bersangkutan diatas benar-benar melaksanakan penelitian di Laboratorium Central Riset & Diagnostik Satwa Sehat Indonesia, pada tanggal 29 September – 4 Maret 2026. Dengan judul penelitian:

“PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK GLETANG (*Tridax procumbens*) TERHADAP JUMLAH OSTEOLAS DAN OSTEOKLAS PADA TULANG FEMUR TIKUS WISTAR PASCA OVARIETOMI.”

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenar-benarnya agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 10/04/2025
Kepala Laboratorium,




(Dewi Mariyam, drh)
SIP. 520.11/0005/35.73.406/2023

Email : laboratorium@satwasehatindonesia.com
Website : www.lab.satwasehatindonesia.com
Katalog : www.lab.satwasehatindonesia.com

*Menggandakan, menggunakan dan menyebarkan dokumen ini diluar ijin adalah termasuk tindakan melawan hukum.

Lampiran 4. Dokumentasi Kegiatan Penelitian

Pengelompokan dan penimbangan tikus Wistar



Aklimatisasi dan pemberian makan minum



Menyiapkan Alat dan Bahan Untuk Pembedahan



Pembedahan Pengambilan Ovarium (Ovariektomi)

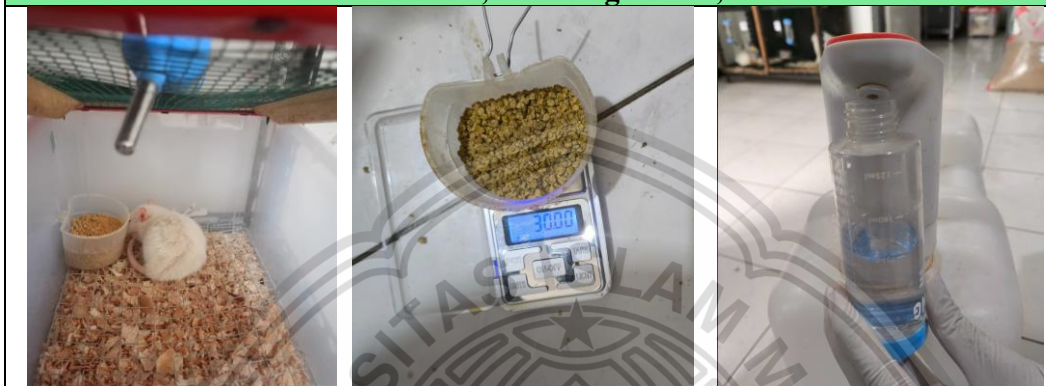


Pengolesan Salep Antibiotik Setelah Pembedahan

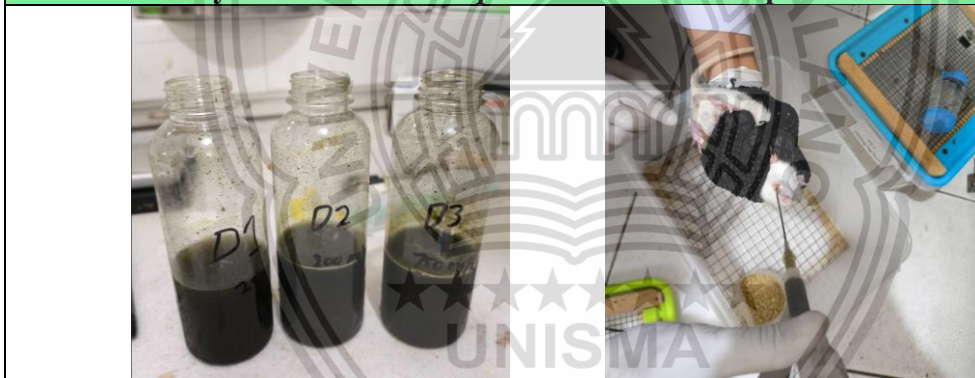




Perlakuan Hewan Coba, Timbang Pakan, Ukur Minum



Penyondean ekstrak *T. procumbens* ke tikus perlakuan



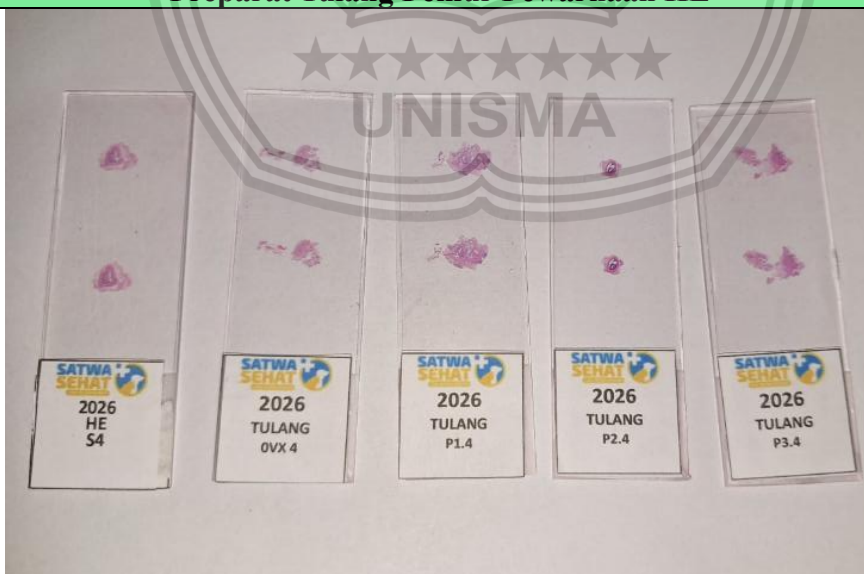
Hitung Sisa Pakan Minum dan Timbang BB/Minggu



Pengorbanan Tikus dan Pengambilan Sampel Tulang Femur



Preparat Tulang Femur Pewarnaan HE



Pengamatan dan pengambilan gambar pada preparat dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin



Lampiran 5. Data Berat Badan Tikus

BB	BB Awal	Sebelum Perlakuan	Mg g 1	Mg g 2	Mg g 3	Setelah Perlakuan	Rata-Rata
Sham. 1	162	191	125	137	138	136	148,17
Sham. 2	121	124	195	197	182	187	167,67
Sham. 3	109	112	85	126	134	138	117,33
Sham. 4	155	161	180	168	168	168	166,67
Sham. 5	118	120	137	143	134	140	132,00
Sham. 6	152	131	142	160	140	143	144,67
Rata-rata	136,17	139,83				152,00	146,08
OVX. 1	163	172	173	189	187	190	179,00
OVX. 2	139	140	146	155	155	162	149,50
OVX. 3	150	139	106	91	115	120	120,17
OVX. 4	114	126	132	139	149	153	135,50
OVX. 5	147	148	164	164	172	178	162,17
OVX. 6	166	174	182	191	261	255	204,83
Rata-rata	146,50	149,83				176,33	158,53
P1.1	119	123	128	138	141	146	132,50
P1.2	170	174	182	190	196	200	185,33
P1.3	125	129	135	144	154	160	141,17
P1.4	119	106	140	146	148	152	135,17
P1.5	123	129	136	142	155	163	141,33
P1.6	149	159	162	144	150	155	153,17
Rata-rata	134,17	136,67				162,67	148,11
P2.1	155	163	178	187	198	205	181,00
P2.2	168	165	176	189	187	190	179,17
P2.3	127	129	111	175	184	188	152,33
P2.4	141	149	150	160	141	149	148,33
P2.5	175	180	188	167	143	156	168,17
P2.6	182	195	218	235	228	232	215,00
Rata-rata	158,00	163,5				186,67	174,00
P3.1	149	141	150	147	153	162	150,33
P3.2	148	150	143	165	133	138	146,17
P3.3	171	136	189	206	213	220	189,17
P3.4	113	119	130	136	138	140	129,33
P3.5	85	143	159	160	169	171	147,83
P3.6	127	133	130	135	140	144	134,83
Rata-rata	132,17	137				162,50	149,61

Lampiran 6. Data Hasil Jumlah Osteoblas dan Osteoklas

KODE SAMPEL	OSTEOBLAS					RATA- RATA	SD
	LP1	LP2	LP3	LP4	LP5		
S1	32	27	31	34	43	33,4	4,78
S2	37	22	18	36	15	25,6	
S3	15	34	20	16	21	21,2	
S4	34	33	37	30	32	33,2	
S5	32	27	31	35	31	31,2	
S6	28	23	29	31	33	28,8	
RERATA						28.90	
OVX-1	7	8	13	14	6	9,6	2,08
OVX-2	16	13	15	10	19	14,6	
OVX-3	8	9	14	8	6	9	
OVX-4	11	13	10	15	12	12,2	
OVX-5	12	8	3	19	14	11,2	
OVX-6	11	15	14	16	8	12,8	
RERATA						11.57	
P1.1	21	19	27	24	28	23,8	2,65
P1.2	18	31	10	15	14	17,6	
P1.3	16	18	19	12	21	17,2	
P1.4	21	20	13	15	14	16,6	
P1.5	18	19	10	24	18	17,8	
P1.6	15	11	21	17	25	17,8	
RERATA						18.47	
P2.1	24	20	12	19	24	19,8	2,08
P2.2	28	16	26	31	19	24	
P2.3	35	23	15	10	29	22,4	
P2.4	20	14	12	24	27	19,4	
P2.5	16	31	16	18	31	22,4	
P2.6	17	13	10	29	25	18,8	
RERATA						21.13	
P3.1	21	31	30	28	26	27,2	4,36
P3.2	27	29	13	16	19	20,8	
P3.3	20	21	15	15	21	18,4	
P3.4	16	19	36	23	39	26,6	
P3.5	24	26	29	31	30	28	
P3.6	28	32	30	29	27	29,2	
RERATA						25.03	

KODE SAMPel	OSTEOKLAS					Jumlah Sel	SD
	LP1	LP2	LP3	LP4	LP5		
S1	0	0	0	1	1	2	0,4
S2	0	0	0	0	1	1	
S3	0	1	0	0	0	1	
S4	0	0	0	1	0	1	
S5	0	0	0	1	0	1	
S6	0	1	0	0	0	1	
RERATA						1,17	
OVX-1	1	1	0	2	1	5	0,5
OVX-2	0	1	2	1	1	5	
OVX-3	1	1	1	1	1	5	
OVX-4	1	1	0	1	1	4	
OVX-5	0	0	1	3	1	4	
OVX-6	1	1	1	1	1	5	
RERATA						4,67	
P1.1	1	1	1	0	1	4	0,4
P1.2	1	2	1	0	1	5	
P1.3	1	1	1	1	0	4	
P1.4	0	0	1	2	1	4	
P1.5	0	0	4	0	0	4	
P1.6	1	0	0	2	1	4	
RERATA						4,17	
P2.1	0	0	1	1	1	3	0,5
P2.2	1	0	0	1	0	2	
P2.3	0	0	0	2	0	2	
P2.4	1	1	0	0	0	2	
P2.5	0	1	0	1	0	2	
P2.6	1	0	1	1	0	3	
RERATA						2,33	
P3.1	0	1	1	0	0	2	0,4
P3.2	1	0	0	1	0	2	
P3.3	0	0	0	1	1	2	
P3.4	1	0	0	0	1	2	
P3.5	0	0	0	1	1	2	
P3.6	1	0	0	0	0	1	
RERATA						1,83	

Lampiran 7. Analisis Data Statistik

Hasil SPSS Karakteristik Sampel Berat Badan

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Sesudah Perlakuan	SHAM	.334	6	.035	.797	6	.055
	OVX	.215	6	.200 [*]	.944	6	.690
	OVX+TP250	.326	6	.045	.790	6	.048
	OVX+TP500	.184	6	.200 [*]	.951	6	.747
	OVX+TP750	.226	6	.200 [*]	.823	6	.093

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

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Sesudah Perlakuan	Based on Mean	.798	4	25	.538
	Based on Median	.770	4	25	.555
	Based on Median and with adjusted df	.770	4	19.723	.557
	Based on trimmed mean	.822	4	25	.524

ANOVA

Sesudah Perlakuan					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4395.467	4	1098.867	1.149	.357
Within Groups	23901.500	25	956.060		
Total	28296.967	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Sesudah Perlakuan
LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
SHAM	OVX	-24.33333	17.85180	.185	-61.0998	12.4331
	OVX+TP250	-10.66667	17.85180	.556	-47.4331	26.0998
	OVX+TP500	-34.66667	17.85180	.063	-71.4331	2.0998
	OVX+TP750	-10.50000	17.85180	.562	-47.2665	26.2665
OVX	SHAM	24.33333	17.85180	.185	-12.4331	61.0998
	OVX+TP250	13.66667	17.85180	.451	-23.0998	50.4331
	OVX+TP500	-10.33333	17.85180	.568	-47.0998	26.4331
	OVX+TP750	13.83333	17.85180	.446	-22.9331	50.5998
OVX+TP250	SHAM	10.66667	17.85180	.556	-26.0998	47.4331
	OVX	-13.66667	17.85180	.451	-50.4331	23.0998
	OVX+TP500	-24.00000	17.85180	.191	-60.7665	12.7665
	OVX+TP750	.16667	17.85180	.993	-36.5998	36.9331
OVX+TP500	SHAM	34.66667	17.85180	.063	-2.0998	71.4331
	OVX	10.33333	17.85180	.568	-26.4331	47.0998
	OVX+TP250	24.00000	17.85180	.191	-12.7665	60.7665
	OVX+TP750	24.16667	17.85180	.188	-12.5998	60.9331
OVX+TP750	SHAM	10.50000	17.85180	.562	-26.2665	47.2665
	OVX	-13.83333	17.85180	.446	-50.5998	22.9331
	OVX+TP250	-.16667	17.85180	.993	-36.9331	36.5998
	OVX+TP500	-24.16667	17.85180	.188	-60.9331	12.5998

Hasil SPSS Jumlah Osteoblas

Tests of Normality

kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
osteoblas	SHAM	.185	6	.200*	.909	6	.430
	OVX	.161	6	.200*	.969	6	.886
	OVX+TP250	.433	6	<.001	.659	6	.002
	OVX+TP500	.239	6	.200*	.900	6	.375
	OVX+TP750	.307	6	.081	.854	6	.169

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

a. Lilliefors Significance Correction

Oneway

Descriptives

osteoblas

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
SHAM	6	28.9000	4.77954	1.95124	23.8842	33.9158	21.20	33.40
OVX	6	11.5667	2.08391	.85075	9.3797	13.7536	9.00	14.60
OVX+TP250	6	18.4667	2.65229	1.08279	15.6833	21.2501	16.60	23.80
OVX+TP500	6	21.1333	2.08103	.84958	18.9494	23.3172	18.80	24.00
OVX+TP750	6	25.0333	4.36425	1.78170	20.4533	29.6133	18.40	29.20
Total	30	21.0200	6.77874	1.23762	18.4888	23.5512	9.00	33.40

Tests of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
osteoblas	Based on Mean	2.301	4	25	.087
	Based on Median	1.184	4	25	.342
	Based on Median and with adjusted df	1.184	4	15.474	.356
	Based on trimmed mean	2.196	4	25	.099

ANOVA

osteoblas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1044.595	4	261.149	22.670	<.001
Within Groups	287.993	25	11.520		
Total	1332.588	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: osteoblas
LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
SHAM	OVX	17.33333 [*]	1.95957	<,001	13.2975	21.3691
	OVX+TP250	10.43333 [*]	1.95957	<,001	6.3975	14.4691
	OVX+TP500	7.76667 [*]	1.95957	<,001	3.7309	11.8025
	OVX+TP750	3.86667	1.95957	.060	-.1691	7.9025
OVX	SHAM	-17.33333 [*]	1.95957	<,001	-21.3691	-13.2975
	OVX+TP250	-6.90000 [*]	1.95957	.002	-10.9358	-2.8642
	OVX+TP500	-9.56667 [*]	1.95957	<,001	-13.6025	-5.5309
	OVX+TP750	-13.46667 [*]	1.95957	<,001	-17.5025	-9.4309
OVX+TP250	SHAM	-10.43333 [*]	1.95957	<,001	-14.4691	-6.3975
	OVX	6.90000 [*]	1.95957	.002	2.8642	10.9358
	OVX+TP500	-2.66667	1.95957	.186	-6.7025	1.3691
	OVX+TP750	-6.56667 [*]	1.95957	.003	-10.6025	-2.5309
OVX+TP500	SHAM	-7.76667 [*]	1.95957	<,001	-11.8025	-3.7309
	OVX	9.56667 [*]	1.95957	<,001	5.5309	13.6025
	OVX+TP250	2.66667	1.95957	.186	-1.3691	6.7025
	OVX+TP750	-3.90000	1.95957	.058	-7.9358	.1358
OVX+TP750	SHAM	-3.86667	1.95957	.060	-7.9025	.1691
	OVX	13.46667 [*]	1.95957	<,001	9.4309	17.5025
	OVX+TP250	6.56667 [*]	1.95957	.003	2.5309	10.6025
	OVX+TP500	3.90000	1.95957	.058	-.1358	7.9358

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

Hasil SPSS Jumlah Osteoklas

Tests of Normality

	kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
OSTEOCLAST	SHAM	.492	6	<,001	.496	6	<,001
	OVX	.407	6	.002	.640	6	.001
	OVX+TP250	.492	6	<,001	.496	6	<,001
	OVX+TP500	.407	6	.002	.640	6	.001
	OVX+TP750	.492	6	<,001	.496	6	<,001

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variance

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
osteoklas	Based on Mean	1.055	4	25	.399
	Based on Median	.221	4	25	.924
	Based on Median and with adjusted df	.221	4	23.884	.924
	Based on trimmed mean	1.055	4	25	.399

UJI KRUSKAL WALLIS DAN MANN WHITNEY

Kruskal-Wallis Test

Ranks			
	kelompok	N	Mean Rank
OSTEOCLAST	SHAM	6	4.83
	OVX	6	26.00
	OVX+TP250	6	23.00
	OVX+TP500	6	13.50
	OVX+TP750	6	10.17
Total		30	

Test Statistics ^{a,b}	
	OSTEOCLAS T
Kruskal-Wallis H	25.801
df	4
Asymp. Sig.	<.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
kelompok

Mann-Whitney Test

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
OSTEOCLAST	SHAM	6	3.50	21.00
	OVX	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	OSTEOCLAS T
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.052
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

Mann-Whitney Test

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
OSTEOCLAST	SHAM	6	3.50	21.00
	OVX+TP250	6	9.50	57.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	OSTEOCLAS T
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.108
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

Mann-Whitney Test

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
OSTEOCLAST	SHAM	6	3.83	23.00
	OVX+TP500	6	9.17	55.00
	Total	12		

Test Statistics ^a	
	OSTEOCLAS T
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	23.000
Z	-2.768
Asymp. Sig. (2-tailed)	.006
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.009 ^b

Mann-Whitney Test

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
OSTEOCLAST	SHAM	6	4.50	27.00
	OVX+TP750	6	8.50	51.00
	Total	12		

Test Statistics^a

OSTEOCLAS T	
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	27.000
Z	-2.211
Asymp. Sig. (2-tailed)	.027
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.065 ^b

Mann-Whitney Test

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
OSTEOCLAST	OVX	6	8.00	48.00
	OVX+TP250	6	5.00	30.00
	Total	12		

Test Statistics^a

OSTEOCLAS T	
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	30.000
Z	-1.682
Asymp. Sig. (2-tailed)	.093
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.180 ^b

Mann-Whitney Test

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
OSTEOCLAST	OVX	6	9.50	57.00
	OVX+TP500	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

OSTEOCLAS T	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

Mann-Whitney Test

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
OSTEOCLAST	OVX	6	9.50	57.00
	OVX+TP750	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

OSTEOCLAS T	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.052
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

Mann-Whitney Test

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
OSTEOCLAST	OVX+TP250	6	9.50	57.00
	OVX+TP500	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

OSTEOCLAS T	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.052
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

Mann-Whitney Test

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
OSTEOCLAST	OVX+TP250	6	9.50	57.00
	OVX+TP750	6	3.50	21.00
	Total	12		

Test Statistics^a

OSTEOCLAS T	
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-3.108
Asymp. Sig. (2-tailed)	.002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^b

Mann-Whitney Test

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
OSTEOCLAST	OVX+TP500	6	7.83	47.00
	OVX+TP750	6	5.17	31.00
	Total	12		

Test Statistics^a

	OSTEOCLAST
Mann-Whitney U	10.000
Wilcoxon W	31.000
Z	-1.687
Asymp. Sig. (2-tailed)	.092
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.240 ^b

KELOMPOK	KELOMPOK	P Value
SHAM	OVX	0,002
	OVX+TP250	0,002
	OVX+TP500	-0,009
	OVX+TP750	0,065
OVX	SHAM	0,002
	OVX+TP250	0,180
	OVX+TP500	0,002
	OVX+TP750	0,002
OVX+TP250	SHAM	0,002
	OVX	0,180
	OVX+TP500	-0,002
	OVX+TP750	0,002
OVX+TP500	SHAM	-0,009
	OVX	0,002
	OVX+TP250	-0,002
	OVX+TP750	0,240
OVX+TP750	SHAM	0,065
	OVX	0,002
	OVX+TP250	0,002
	OVX+TP500	0,240

a. Osteoblas

Kelompok	Berbeda signifikan dengan (kode kelompok)	Notasi
SHAM (a)	b, c, d	a
OVX (b)	a, c, d, e	b
OVX+TP250 (c)	a, b, e	c
OVX+TP500 (d)	a, b	d
OVX+TP750 (e)	b, c	e

b. Osteoklas

Kelompok	Berbeda signifikan dengan (kode kelompok)	Notasi
SHAM (a)	b, c, d	a
OVX (b)	a, d, e	b
OVX+TP250 (c)	a, d, e	b
OVX+TP500 (d)	a, b, c	c
OVX+TP750 (e)	b, c	d

