

1. PLANTS, MEDICINAL
2. MICE

IR - Perpustakaan Universitas Airlangga

KK B

KK-2B

615.323 53

Wur

p.



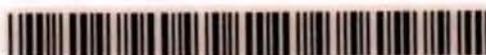
LAPORAN PENELITIAN
DIK SUPLEMEN UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2002

PENGARUH ALKOLOID *Achyranthes Aspera* Linn TERHADAP PERKEMBANGAN EMBRIO (Cleavage) MENCIT (*Mus Musculus*)

Peneliti:

Dr. drh. WURLINA, MS.

dr. WIDAYAT SASTROWARDOYO, SpFK.



016803141

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

3000168033141

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh Dana DIK Suplemen Universitas Airlangga Tahun 2002

S.K Rektor Universitas Airlangga Nomor 4879/J03/PG/2001

Tanggal 7 Juni 2002

Nomor Urut: 54

PUSAT PENELITIAN OBAT TRADISIONAL
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Nopember, 2002

UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN

1. Puslit Pembangunan Regional
2. Puslit Obat Tradisional
3. Puslit Pengembangan Hukum (5923584)
4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718)
5. Puslit Pengembangan Gizi (5995720)
6. Puslit/Studi Wanita (5995722)
7. Puslit Olah Raga
8. Puslit Bioenergi
9. Puslit Kependudukan dan Pembangunan (5995719)
10. Puslit/ Kesehatan Reproduksi

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 596
E-mail : lpunair@rad.net.id - http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

3000168033141

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. Judul Penelitian	:	<i>PENGARUH ALKALOID ACHYRANTES ASPERA LINN TERHADAP PERKEMBANGAN EMBRIO (CLEAVAGE) MENCIT (MUS MUSCULINUS)</i>	
a. Macam Penelitian	:	<input type="checkbox"/> Fundamental	<input type="checkbox"/> Terapan <input type="checkbox"/> Pengembangan
b. Kategori Penelitian	:	<input type="checkbox"/> I	<input type="checkbox"/> II <input type="checkbox"/> III
2. Kepala Poyek Penelitian	:		
a. Nama lengkap dan Gelar	:	Dr. Wurlina, drh.,MS.	
b. Jenis kelamin	:	Perempuan	
c. Pangkat/Golongan dan NIP	:	Penata Tk.I /Gol.IIIId/131 257 033	
d. Jabatan Sekarang	:	Staf Pengajar	
e. Fakultas/Puslit/Jurusan	:	Puslit Obat Tradisional	
f. Univ./Ins./Akademi	:	Universitas Airlangga	
g. Bidang Ilmu yang diteliti	:	Penelitian Terapan/Pengembangan IPTEK	
3. Jumlah Tim Peneliti	:	2 (dua) orang	
4. Lokasi Penelitian	:	Fakultas Karakteran Hewan Unair	
5. Kerjasama dengan Instansi lain	:		
a. Nama Instansi	:	-	
b. Alamat	:	-	
6. Jangka waktu penelitian	:	5 (lima) bulan	
7. Biaya yang diperlukan	:	Rp.4.000.000,00	
8. Seminar Hasil Penelitian	:		
a. Dilaksanakan Tanggal	:	15 Nopember 2002	
b. Hasil Penelitian	:	<input type="checkbox"/> Baik Sekali	<input checked="" type="checkbox"/> Baik
		<input type="checkbox"/> Sedang	<input type="checkbox"/> Kurang



Surabaya, 15 Nopember 2002



Mengetahui/Mengesahkan
a.n. Rektor
Ketua Lembaga Penelitian,

Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S.
NIP 130 701 125

SUMMARY

INFLUENCE FLAVONOID ACHYRANTES ASPERA LINN ON EMBRYOS DEVELOPMENT (CLEAVAGE) IN MICE (MUS MUSCULUS)

Wurlina and W. Sastrowardoyo, 2002, page 42.

Infuse leaves of *Achyranthes aspera* Linn contain triterpenoid and saponin and the function to delay gonatropine and fertilization. There is substance active what influence infuse leaves of *Achyranthes aspera* Linn on cleavage in mice.

Antifertility effect determine used parameter percentage of ovum, zygote, embryos and embryos stage at slicing.

100 female mices divided to 4 groups as vagina plug moment, 24 hours after vagina plug, 36 hours after vagina plug and 48 hours after vagina plug. Each mice group divided in to 5 sub group as control was given NaCl physiologis and 4 sub groups were given infuse leaves of *Achyranthes aspera* Linn continuously 3%, 10%, 30% and 50%. Infuse leaves of *Achyranthes aspera* Linn given single dose to fit on group and sub group. After 12 hours each groups to operate on flushing.

The result of the research is the increase dose were infuse leaves of *Achyranthes aspera* Linn to decrease percentage of ovum, zygote, embryos and stage embryos at slicing.

Conclusion result of the research were infuse leaves of *Achyranthes aspera* Linn have antifertility effect to delay fertilization and cleavage on mice begin concentrated 10%, whereas each group were given concentrated 30% was not fertilization and stop embryos stage.

(L.P.Puslit DIK Suplemen Unair SK Rektor Nomer 4879/J03/PG/2002)

RINGKASAN

PENGARUH ALKALOID *ACHYRANTES ASPERA LINN* TERHADAP PERKEMBANGAN EMBRIO (*CLEAVAGE*) MENCIT (*MUS MUSCULUS*)

(Wurlina dan W. Sastrowardoyo. 2002 : 42 halaman)

Perasan daun *Achyranthes aspera linn* mengandung zat aktif diantaranya triterpenoid dan saponin diduga dapat menghambat gonadotropin dan fertilisasi. Adanya zat aktif tersebut apakah perasan daun *Achyranthes aspera linn* berpengaruh terhadap pembelahan embrio (*cleavage*) pada mencit (*mus musculus*).

Untuk menentukan adanya efek antifertilitas yang terjadi pada mencit digunakan parameter : pemeriksaan jumlah sel telur, zygote, embrio dan perkembangan embrio hasil dari flushing alat kelamin.

Jumlah sampel yang digunakan adalah 100 ekor mencit betina dan sejumlah jantan jantan dewasa yang telah memenuhi persyaratan untuk pengujian antifertilitas. Mencit dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok I untuk diberi perasan daun saat terlihat vagina plug, kelompok II untuk diberi perasan daun 24 jam saat terlihat vagina plug, kelompok III untuk diberi perasan daun saat diberi infusa 36 jam terlihat vagina plug dan kelompok IV untuk diberi perasan saat terlihat 48 jam vagina plug. Tiap-tiap kelompok dibagi lagi menjadi 5 perlakuan yaitu kontrol diberi NaCl fisiologis 0,5 ml, perlakuan I, II, III dan IV diberi perasan daun *Achyranthes aspera linn* dengan konsentrasi berturut-turut 3 %, 10 %, 30 % dan 50 %. Pemberian perasan daun dilakukan hanya sekali yaitu dosis tunggal sesuai dengan kelompok dan perlakuan.

Setelah dilakukan penelitian hasilnya adalah semakin besar dosis perasan daun *Achyranthes aspera linn* yang diberikan semakin menurun persentase jumlah ovum, zygote, embrio.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa perasan daun *Achyranthes aspera linn* mempunyai efek antifertilitas dengan mencegah fertilisasi dan pembelahan sel embrio pada mencit mulai pemberian dengan konsentrasi 10 %.

Untuk mengetahui batas keamanan perasan daun *Achyranthes aspera linn* sebagai antifertilitas perlu dilakukan uji toksisitas.

(L.P.Puslit DIK Suplemen Unair SK Rektor Nomer 4879/J03/PG/2002)

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa atas karunianya yang telah melimpahkan Rachmatnya kepada penulis, sehingga dapat menyelesaikan penulisan hasil penelitian dengan judul : " **PENGARUH ALKALOID *ACHYRANTES ASPERA LINN* TERHADAP PERKEMBANGAN EMBRIO (*CLEAVAGE*) MENCIT (*MUS MUSCULUS*)** " yang dibiayai melalui DIK. Suplemen Unair tahun 2002. Judul penelitian yang benar adalah sebagai berikut : " **PENGARUH FLAVONOID *ACHYRANTES ASPERA LINN* TERHADAP PERKEMBANGAN EMBRIO (*CLEAVAGE*) MENCIT (*MUS MUSCULUS*)** ".

Pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih kepada Prof.Dr. H. Sarmanu, drh.,MS selaku ketua Lemlit Unair, Prof.Dr.Med. H.Puruhito,dr.,Sp.B selaku rektor Unair dan Prof. dr. H. Soedarto, DTM&H, PhD. selaku mantan rektor Unair, serta rekan-rekan yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

Semoga hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan informasi ilmiah dalam pengembangan ilmu pengetahuan pada umumnya dan khususnya dibidang pengembangan obat tradisional yang berkaitan dengan efek antifertilitas pada tanaman yang dapat dikembangkan sebagai bahan baku/obat antifertilitas yang tidak harus diminum secara terus menerus sepanjang mas aktif reproduksi wanita namun diminum sewaktu dibutuhkan saja yaitu diminum setelah hubungan seksual (*post coital contraception*).

Tim Peneliti

Dr. Wurlina,drh.,MS.
dr. Widayat Sastrowardoyo, SpFK.

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	21
BAB IV. METODE PENELITIAN	23
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN	33
DAFTAR PUSTAKA	34
GAMBAR	39
LAMPIRAN	41

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil jumlah sel telur,zygote, embrio (<i>cleavage</i>) dan abnormalitas	28

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema 3 tahap penembusan oosit	15
Gambar 2. Tanaman <i>Achyranthes Aspera Linn</i>	39
Gambar 3. Kantong Fertilisasi	39
Gambar 4. Perkembangan embrio pada mencit	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Jumlah perkembangan embrio mencit setelah pemberian AAL	41
Lampiran 2. Dosis infusa <i>Achyranthes Aspera Linn</i> pada mencit.	42

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Konferensi kependudukan sedunia yang pertama di Bukares (1974) memberi isyarat bahwa ledakan penduduk harus segera diatasi. Dijelaskan bahwa dengan laju pertumbuhan sebesar 1% saja maka jumlah penduduk dunia akan menjadi dua kali lipat dalam kurun waktu 70 tahun. Sedangkan bila laju pertumbuhan penduduk sebesar 2,4% seperti di negara yang sedang berkembang, maka jumlah penduduk dunia akan menjadi dua kali lipat dalam kurun waktu 29 tahun. Dengan perkembangan seperti ini dapat diperkirakan bahwa jumlah penduduk dunia akan meningkat menjadi 10 miliar pada tahun 2030 (Meles dan Widayat. 2001).

Berdasarkan data sensus penduduk indonesia yang dilakukan oleh biro pusat statistik, penduduk Indonesia pada tahun 2000 mencapai 203,46 juta atau tepatnya 203.456.005 orang dengan rincian penduduk laki-laki 101.641.570 orang sedangkan penduduk wanita 101.814.435 orang. Laju pertumbuhan penduduk Indonesia pertahun periode 1990 - 2000 adalah 1,35 % (Anonimus, 2001). Para ahli di indonesia memperkirakan bahwa dengan laju pertumbuhan seperti itu maka pada tahun 2030 nanti jumlah penduduk indonesia akan menjadi lebih 335 juta.



Salah satu usaha yang dilakukan untuk mencapai pertumbuhan penduduk yang seimbang diberikan pelayanan keluarga berencana yang bersifat kafeteria, artinya masyarakat diberi kesempatan memilih alat kontrasepsi untuk wanita yaitu: pil, AKDR (Alat Kontrasepsi Dalam Rahim), suntikan, implan, susuk dan sebagainya. Dari berbagai macam alat kontrasepsi, yang paling banyak digunakan adalah kontrasepsi oral dan pesertanya bertambah 20.000 pasangan setiap hari. Meningkatnya peserta program keluarga berencana berakibat meningkatnya kebutuhan akan bahan kontrasepsi oral (Lubis dkk.,1985; Padmawinata dkk.,1985; Meles dan Widayat, 2001).

Obat kontrasepsi oral mengandung hormon estrogen, progesteron dan kombinasi kedua hormon tersebut. Mekanisme kerja hormon tersebut adalah mengadakan umpan balik negatif (*Feedback mekanism*) pada poros hipotalamus-hipofise-ovarium yang menyebabkan gangguan pada proses pembentukan sel telur dan ovulasi (Klonof dan Karam, 2001). Obat kontrasepsi oral yang ada harus diminum setiap hari secara terus menerus selama masih aktif organ reproduksi wanita tersebut dengan efek samping yang beraneka ragam.

Dari permasalahan tersebut upaya penelitian terus dilakukan untuk memperoleh obat kontrasepsi oral yang efektif dan efisien dengan efek samping seminimal mungkin serta tidak harus diminum secara terus menerus setiap hari, namun diminum apabila hanya dibutuhkan saja yaitu setelah berhubungan seksual (*post coital contraception*).

Badan pangan dan obat-obatan Amerika Serikat (FDA) telah menyetujui penggunaan pil keluarga berencana yang digunakan setelah hubungan seksual (Anonimus, 2001). Obat antifertilitas yang digunakan setelah hubungan seksual diperkirakan bekerja pada awal terjadinya fertilisasi yaitu mulai pembentukan zygote, terbentuknya embrio 2 sel, 4 sel, 8 sel, 16 sel hingga blastosis sebelum terjadinya implantasi (Meles dan Widayat, 2001).

Selama ini bahan baku obat kontrasepsi oral masih 100% diimpor (Padmawita dkk.,1985). Dengan demikian swasembada dalam penyediaan bahan baku obat kontrasepsi oral mempunyai arti yang sangat penting.

Tanaman *Achyranthes aspera linn* yang lebih dikenal dengan nama remek getih merupakan tanaman asli Indonesia. Perasan daun tersebut telah digunakan oleh masyarakat dipedesaan untuk menjarangkan kelahiran bahkan wanita hamil dilarang minum. Dari penelitian para ahli tanaman *Achyranthes aspera linn* mengandung akirantin, ramnose, glukosa, galaktosa, reilosa, hendriacontan, alkaloid, betain, ecdysteron, triterpenoid dan saponin (Mardisiswojo dan Kusuma, 1968; Hembing dkk, 1996; Wei dkk, 1997; Ida dkk.,1998; Gao dkk., 2000; Mitaine dkk., 2001; Chakraborty dkk., 2002).

Triterpenoid dan saponin merupakan flavonoid tanaman yang berpengaruh terhadap permeabilitas membran sel yang erat kaitannya dengan transport nutrisi yang diperlukan untuk metabolisme sel dalam menghasilkan energi. Permeabilitas membran sel telur, embrio dan spermatozoa erat kaitannya

dengan proses pertumbuhan dan perkembangan embrio (*cleavage*) serta spermatogenesis (Tahiliani dan Kai,2000).

Tumbuhan *Achyranthes aspera linn* yang merupakan tanaman asli Indonesia perlu dibuktikan secara ilmiah sampai seberapa jauh pengaruhnya terhadap pembelahan sel embrio (*cleavage*) pada mencit betina, kemungkinan dapat dimanfaatkan sebagai obat anti fertilitas setelah hubungan seksual (*post coital kontraception*).

Keberhasilan penelitian ini bermanfaat sebagai landasan penelitian lebih lanjut yang biasa dilakukan terhadap lahirnya obat antifertilitas. Sedangkan jangka panjang pemanfaatan tanaman *Achyranthes aspera linn* yang banyak terdapat di Indonesia sebagai bahan baku obat antifertilitas masa depan yang digunakan setelah hubungan seksual (*post coital contraception*).

1.2. Permasalahan

1. Upaya untuk melestarikan keberhasilan program Keluarga Berencana yang telah dicapai oleh bangsa Indonesia, dan telah diakui oleh masyarakat Internasional.
2. Secara tradisional perasan daun *Achyranthes aspera linn* telah dipergunakan untuk menjarangkan kelahiran bahkan wanita hamil dilarang minum.
3. Obat kontrasepsi oral diminum secara terus menerus sepanjang masa aktif reproduksi wanita.

Dari kerangka pemikiran diatas dapat dirumuskan sebagai berikut:
Apakah infusa daun *Achyranthes aspera linn* yang mengandung triterpenoid dan saponin mempunyai efek antifertilitas terhadap pembelahan sel embrio (*cleavage*) pada mencit betina.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pemanfaatan Tumbuhan Sebagai Bahan Obat

Pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan obat di Indonesia telah dilakukan sejak dahulu, terutama sebagai bahan obat tradisional. Pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan baku obat tradisional menunjukkan kecenderungan untuk meningkat.

Menurut Farnsworth (1975) data National Prescription Audit (NPA) di Amerika Serikat memuat informasi bahwa 25% obat yang digunakan oleh masyarakat Amerika Serikat masih mengandung obat yang bahannya berasal dari tumbuhan. Sedangkan menurut Berg (1987) sekitar 100 bahan obat pada saat ini masih diekstraksi dari tumbuhan.

Di alam terdapat 250.000 jenis tumbuhan dimana sekitar 70% dari tumbuhan tersebut tumbuh di negara yang sedang berkembang di daerah tropis. Dari tumbuhan ini baru sekitar 1% saja yang diteliti potensi ekonominya (Myers dan Norman, 1994). Menurut Birch (1994) tumbuhan dapat mengandung bahan yang berkhasiat. Di dalam mencari bahan yang berkhasiat didalam tumbuhan sering dilakukan kesalahan yaitu membuang bahan-bahan yang berkhasiat tanpa dilakukan penelitian lebih lanjut. Penelitian secara kimia bahan-bahan yang berkhasiat mempunyai nilai yang besar bagi bidang -bidang ilmu lainnya misalnya kemotaksonomi, ekologi dan sintesis. Saat ini obat kontrasepsi oral

yang sangat efektif adalah senyawa steroid. Namun obat-obat ini mempunyai efek samping yang beraneka ragam.

2.2. Tinjauan Umum Tentang Tanaman *Achyranthes Aspera* Linn

Tanaman *Achyranthes aspera* linn termasuk familia *Amaranthaceae*. Tanaman ini merupakan tanaman asli Indonesia, tumbuh secara liar dipekarangan rumah maupun di ladang yang cukup mendapat air dan sinar matahari. Tergolong tumbuhan mudah tumbuhnya. Tingginya sampai 100 cm atau lebih. Daunnya tunggal, duduk berhadapan, bertangkai, warna hijau berbentuk bulat telur sungsang sampai lonjong memanjang. Panjang daun 1,5 - 10 cm dengan kedua permukaan daun berbulu halus. Ujung daun tumpul/memudar dengan pangkal daun menyempit, tepi daun rata dan agak bergelombang dengan tulang daun menyirip. Bunga tumbuh diujung tangkai antara percabangan berbentuk tandan seperti tangkai padi. Kuntum bunga hijau, dengan bulir bulat keras dan tajam (Marisiswojo dan Kusuma, 1968; Hembing dkk., 1996).

Di Indonesia tanaman ini dikenal sebagai beberapa nama antara lain jarongan, jarong laki, daun sdangketan, nyarang, remek getih (Jawa), sui in sui, sangko hidung (Sulawesi), rai rai dodingo (Maluku) dan pulutan, remek getih (Bali) (Hembing dkk., 1996).

2.2.1. Kandungan Zat Pada Tanaman *Achyranthes Aspera Linn*

Menurut beberapa peneliti kandungan zat yang terdapat pada tanaman *Achyranthes aspera linn* yang dibuktikan secara organoleptis adalah tidak berasa dan sejuk. Kandungan yang terkandung pada tanaman tersebut adalah akirantin, ramnose, glukosa, galaktosa, reilosa, hendriacontan, betain, ecdysteron, triterpenoid dan saponin (Mardisiswoyo dan Kusuma, 1968; Wei dkk., 1997; Ida dkk., 1998; Gao dkk., 2000; Mitaine dkk., 2001; Chakraborty dkk., 2002).

Menurut Burrow dkk.(2000) menyatakan bahwa di Cina dan Thailand tanaman yang mengandung saponin digunakan sebagai bahan baku obat antifertilitas. Dikatakan pula bahwa saponin merupakan senyawa yang dapat menekan susunan syaraf pusat pada tikus yang berakibat terjadi gangguan pada jalur hipota;amus-hipofisa-ovarium yang berakibat gangguan sekresi pelepasan gonadotropin.

Wurlina (2000) melakukan penelitian perasan daun *Achyranthes aspera linn* pada mencit ternyata berpengaruh terhadap siklus birahi yaitu dapat memperpanjang periode proestrus dan diestrus dan menurunkan jumlah korpus luteum pada ovarium.

Triterpenoid dan saponin merupakan flavonoid tanaman yang berpengaruh terhadap permeabilitas membran sel yang erat kaitannya dengan transport nutrisi yang diperlukan untuk metabolisme sel dalam menghasilkan energi. Permeabilitas membran sel telur, embrio dan spermatozoa erat kaitannya dengan proses pertumbuhan dan perkembangan embrio (*cleavage*) serta

spermatogenesis (Tahiliani dan Kai,2000). Pengaruh triterpenoid dan saponin pada membran sel telur maupun embrio yaitu dapat menyebabkan pengkerutan membran sehingga integritas membran akan menurun sehingga berpengaruh terhadap perkembangan sel telur dan embrio (*cleavage*) sehingga embrio menjadi mati (Geisert dkk., 1997; Minaine dkk.,2001)

Gill dkk. (2001) dan Juneja dkk. (2001) menyatakan golongan flavonoid maupun alkaloid tanaman dapat menyebabkan gangguan pada membran sel dengan mengakibatkan komponen penyusunan membran akan berubah dan proses fisiologi membran akan terganggu dengan terjadi kerusakan pengkerutan pada membran tersebut. Yanagimachi (1998) menyatakan perubahan karakteristik akibat alkaloid tanaman yang ditambahkan pada media fertilisasi akan terjadi perubahan lipid yang diketahui membantu pemasukan ion kalsium kedalam sel, peningkatan ion kalsium yang masuk kedalam membran dapat merangsang ikatan membran dengan cAMP interseluler.

Nigg dan Seigler (1992) menyatakan bahwa alkaloid maupun flavonoid yang bersal dari tanaman berfungsi sebagai anti spasmodik otot polos dan anti inflamasi. Flavonoid dapat menghambat sintesa uterine peroksidase pada tikus, yaitu enzim yang dapat meningkatkan respon terhadap estrogen. Di Amerika golongan alkaloid maupun flavonoid tanaman sering dikaitkan dengan kejadian abortus pada golongan ruminansia dan syndrome infertilitas serta menyebabkan reduksi pada domba yang diberimakan tanaman tersebut.

Menurut laporan Chang dan But (1997) pada tikus jantan dan betina yang diberi perlakuan flavonoid tanaman selama 10 hari dengan 3 gram/kgBB secara per oral, pada hari kelima dikawinkan dan pada hari ke 35 dilaparotomi, ternyata mempunyai efek kontrasepsi hampir 100%. Efek ini diduga adanya penekanan pada proses ovulasi, atropi uterus dan ovarium. Pemberian flavonoid dosis 80 gram/kgBB pada tikus tersebut mempunyai efek anti implantasi dan menginduksi partus.

Menurut Cody dkk. (1997) dan Gomez dkk. (2001) flavonoid dengan kandungan hidoksil dan phenol dapat memblok aksi gonadotropin sehingga pertumbuhan folikel maupun ovulasi akan terganggu.

2.2.2. Kegunaan Dari Tanaman *Achyranthes Aspera Linn*

Bagian dari tanaman *Achyranthes aspera linn* yang digunakan untuk pengobatan maupun pencegahan terhadap penyakit adalah akar dan seluruh tanaman termasuk daun digunakan untuk mengobati demam, panas, malaria, enteritis, pharyngitis, radang paru-paru (*pneumonia*), gondongan, radang sendi (*Rheumatic arthritis*) infeksi ginjal, nyeri saat menstruasi (*dysmenorrhea*), memperlancar persalinan (*induction of labor*), kencing darah. Perasan daun *Achyranthes aspera linn* digunakan sebagai peluruh haid, mencegah kehamilan dengan minum perasan daun tersebut setelah berhubungan seksual. Sedangkan pada wanita hamil dilarang minum perasan daun tersebut sebab dapat menyebabkan keguguran ((Mardisiswoyo dan Kusuma, 1968; Anonimus, 1978;

Hembing dkk., 1996). Menurut Tahiliani dan Kai, 2000 ; Chakraborty dkk.,2002) menyatakan bahwa ekstrak daun *Achyranthes aspera linn* merupakan bahan obat sebagai anti kanker dan hepatitis.

2.3. Siklus Birahi Pada Mencit

Mencit termasuk hewan poliestrus artinya terjadi beberapa kali birahi dalam satu tahun. Dalam satu siklus birahi terbagi dalam 4 periode yaitu proestrus, estrus, metestrus dan diestrus.

Proestrus merupakan periode persiapan yang ditandai dengan rangsangan pertumbuhan folikel oleh FSH. Periode ini biasanya berlangsung cepat dan terlihat mencit mulai dapat menerima pejantan tetapi masih belum mau melakukan kopulasi, periode ini berlangsung 12 jam. Estrus adalah periode yang terpenting dalam siklus birahi. Selama periode ini mencit betina akan mencari dan mau berkopulasi. Periode ini berlangsung selama 12 jam. Metestrus atau post estrus adalah periode dimana korpus luteum tumbuh dengan cepat dari sel-sel granulosa folikel yang telah pecah dibawa pengaruh LH. Pada periode metestrus alat kelamin berada dibawah pengaruh progesteron yang dihasilkan oleh korpus luteum. Progesteron menghambat sekresi FSH yang dihasilkan oleh hipofisa anterior sehingga menghambat pembentukan folikel de Graaf yang baru dan mencegah terjadinya estrus. Lama periode metestrus kurang lebih sama dengan waktu yang diperlukan ovum untuk mencapai uterus, pada mencit berlangsung 21 jam (Toelihere,1985). Apabila kebuntingan tidak

terjadi, uterus dan saluran reproduksinya beregresi ke keadaan kurang aktif yang disebut dengan diestrus. Diestrus adalah periode paling lama dari siklus birahi. Korpus luteum berkembang dengan sempurna oleh pengaruh hormon LTH. Pada preparat ulas vagina terlihat banyaknya leukosit. Lama periode ini 57 jam (Hafez, 1993; Toelihere, 1985).

2.4. FERTILISASI (PEMBUAHAN)

Fertilisasi atau pembuahan adalah peristiwa bersatunya sebuah spermatozoa dengan sebuah sel telur membentuk satu individu baru yang disebut *zygote*. Fertilisasi merupakan suatu proses ganda yaitu pengaktifan sel telur oleh spermatozoa dan masuknya faktor pejantan dalam sel telur. Tanpa rangsangan pembuahan, sel telur tidak akan memulai pembelahan dan tidak akan ada perkembangan embriologik. Tempat terjadinya proses pembuahan terletak didalam ampula atau bagian yang disebut dengan *ampullary isthmus junction* yaitu batas antara ampula dan ishmus, pada mencit dikenal dengan kantong fertilisasi (Hafez, 1993; Panthaleon dkk.,2001).

Untuk dapat mencapai inti sel ovum, spermatozoa harus menembus 1) segerobolan sel branulosa yang membungkus ovum, 2) mucoprotein atau zona pelusida yang langsung membungkus ovum, 3) dinding ovum atau membran vitelin (Ward dkk, 2001)

Sel granulosa pada kebanyakan mamalia selalu ada , tetapi adakalanya sel ovum telah terlepas dari selubung sel granulosa sehingga spermatozoa tidak



perlu bersusah payah harus menembus blokade sel granulosa. Spermatozoa setelah tiba pada saluran kelamin betina, masih belum mampu membuahi oosit, dan harus melalui kapasitas dan reaksi akrosom. Kapasitas adalah suatu masa penyesuaian spermatozoa didalam alat kelamin betina. Selama proses kapasitas terjadi suatu selubung glikoprotein dan protein plasma dari semen dibuang dari selaput plasma yang meliputi daerah akrosom spermatozoa. Bila proses kapasitas telah selesai maka akan terjadi reaksi akrosom. Reaksi akrosom terjadi saat spermatozoa mendekati oosit dibawah pengaruh zat yang dikeluarkan dari sel korona radiata dan oosit. Penyatuan antara selaput plasma dan bagian luar selaput akrosom, memungkinkan terjadinya pelepasan isi dari akrosom yang diperlukan untuk menembus korona radiata dan zona pelusida. Selama terjadinya reaksi akrosom dilepaskannya zat a) hialuronidase, diperlukan untuk menembus korona radiata, (b) zat mirip tripsin, diperlukan untuk mencernakan zona pelusida dan (3) zona lisin yang melekat pada lapisan dalam selaput akrosom diperlukan untuk membantu spermatozoa melewati zona pelusida (Sadler, 1988; Sathanantha dan Trouson, 2000)

2.4.1. Penembusan Korona Radiata

Dari ratusan juta spermatozoa yang ditumpahkan pada alat kelamin betina hanya ratusan yang dapat mencapai tempat pembuahan. Sedangkan untuk terjadinya pembuahan dibutuhkan hanya satu spermatozoa, sedangkan spermatozoa yang lainnya hanya membantu menembus pelindung pertama

ovum yaitu korona radiata. Enzim yang berperan dalam penembusan korona radiata adalah hialuronidase (Sadler, 1988; Gibert 1988).

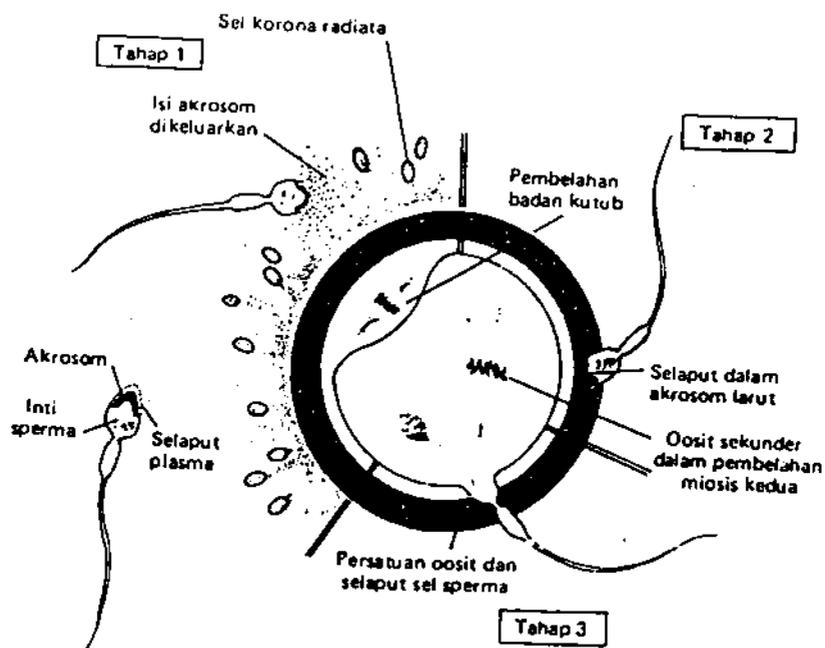
2.4.2. Penembusan Zona Pelusida

Pelindung kedua dari ovum adalah zona pelusida yang ditembus oleh spermatozoa dengan bantuan enzim yang dilepas dari selaput akrosom bagian dalam. Permiabilitas zona pelusida berubah ketika kepala spermatozoa menyentuh oosit. Hal ini berakibat dilepaskannya suatu zat yang menyebabkan gangguan sifat zona pelusida yang disebut dengan reaksi zona (Sadler, 1988).

2.4.3. Penyatuan Selaput Sel Oosit dan Spermatozoa

Segera setelah spermatozoa menyentuh selaput sel oosit, kedua selaput plasma bersatu. Karena selaput plasma yang melindungi kepala akrosom telah hilang selama reaksi akrosom, penyatuan yang terjadi saat ini adalah selaput oosit dan selaput yang meliputi bagian belakang dari kepala spermatozoa. Segera setelah spermatozoa memasuki oosit, sel telur menanggapi dengan 3 cara yang berbeda. Pertama adalah reaksi zona atau reaksi kortikal. Sebagai akibat dari pelepasan butir kortikal oosit adalah selaput oosit menjadi tidak dapat ditembus oleh spermatozoa lain dan zona pelusida mengubah bentuk dan komposisinya sehingga dapat dicegah terjadinya polispermia. Kedua adalah melanjutkan pembelahan miosis kedua. Oosit menyelesaikan pembelahan miosis keduanya segera setelah masuknya spermatozoa, diantaranya sel anak

hampir tidak mendapat sitoplasma dan dikenal dengan badan kutub kedua dan sel anak yang lain adalah oosit definitif dikenal dengan pronukleus betina. Ketiga adalah peggiatan metabolik sel telur yang diduga dibawa oleh spermatozoa.



Gambar 1. Skema 3 tahap penembusan oosit (Sadler, 1988)

Sementara itu spermatozoa bergerak maju mendekati pronukleus betina, intinya membengkak membentuk pronukleus jantan, sedangkan ekornya terlepas dan berdegenerasi. Kedua pronukleus saling berhubungan dengan rapat dan kehilangan selaput intinya. Terpenting hasil dari pembuahan adalah a) pemulihan jumlah kromosom diploid, separuh dari jantan dan separuh lagi dari

induk, sehingga zigote mengandung kombinasi kromosom yang berbeda dengan orang tuanya b) penentuan jenis kelamin dan c) permulaan pembelahan (Sadler 1988).

2.5. Pembelahan Sel Embrio (*cleavage*)

Setelah inti spermatozoa bersatu dengan inti ovum maka terjadi sel baru yang bersifat diploid. Gamet yang telah membelah menjadi 2 sel atau lebih disebut dengan embrio. Lama fertilisasi dihitung berdasarkan waktu yang diperlukan sejak dimulai masuknya spermatozoa kedalam sel telur sampai dimulainya pembelahan zygote tersebut. Pertumbuhan embrio yang dimulai dengan membelah diri dari satu menjadi dua sel dan seterusnya tidak merubah besarnya seluruh embrio, sebab pembelahan dan pertumbuhan ini terjadi dalam zona pelusida dan sel-sel yang terbentuk makin lama makin kecil.

Menurut Scott dkk. (2000) dan Ward dkk. (2001) menyatakan bahwa proses pembelahan sel dibagi menjadi 2 fase yaitu interfase dan pembelahan mitosis. Pada stadium pembelahan interfase disebut pula dengan stadium persiapan yaitu fase persiapan pembelahan sel yang meliputi : 1) periode G1 yaitu periode sel yang akan membelah sedang aktif mensintesis RNA, 2) periode S atau disebut dengan periode sintesis yaitu suatu periode yang aktif mensintesis DNA membutuhkan waktu 8 jam dan 3) periode G2 yaitu persiapan sitoplasma untuk membelah yang membutuhkan waktu 5 jam. Stadium interfase membutuhkan waktu paling lama diantara fase-fase yang lain yaitu berkisar \pm 23 jam.

Menurut Shatananthan dan Trouson (2000) menyatakan bahwa setelah fase G2 selesai dilanjutkan dengan pembelahan sel secara mitosis yang terdiri dari 4 fase yaitu 1) profase yaitu kromosom terlihat halus dan panjang yang terdiri dari kromatid rangkap dua, sentrosom mengganda menjadi dua dan merenggang untuk menuju ke kutub-kutub yang berseberangan dengan inti. Selanjutnya akhir dari profase selaput inti mulai hancur, kromosom menggantung pada sentromer tersebar seimbang pada ke dua kutub, 2) metafase yaitu kromosom pindah ke bidang equator, 3) anafase yaitu kromatid dari setiap kromosom terlepas karena sentromer membelah menjadi dua kemudian berpisah pindah ke kutub yang berseberangan dan 4) telofase yaitu kromosom mulai berubah menjadi kromatin kemudian terbentuk cekungan dibagian equator dan akhir dari telofase terbentuk embrio 2 sel yang masing-masing memiliki sentrosom yang mengandung sepasang sentriol. Selanjutnya embrio 2 sel yang terbentuk akan membelah lagi dengan mekanisme yang sama secara berurutan menjadi embrio 4 sel, embrio 8 sel, embrio 16 sel sampai morula sebelum terjadi implantasi.

Pada waktu embrio masih dalam keadaan 2-8 sel, belum ada pembagian tugas untuk tiap-tiap sel. Tiap sel masih mungkin tumbuh menjadi individu baru. Sedangkan embrio yang mencapai 32 sel yang disebut dengan morula telah ada pembagian tugas tiap-tiap sel dan tidak dapat tumbuh menjadi individu baru. Morula berkembang terus menjadi blastosit yang mempunyai tropoblast yang berfungsi untuk menyerap cairan nutrisi bagi embrio tersebut. Zona pelusida

tetap membungkus embrio sampai embrio tersebut menyentuh endometrium untuk proses implantasi.

Proses pembelahan sel telur yang dibuahi oleh spermatozoa menjadi embrio 2 sel pada mamalia berjalan lambat dimana pada mencit maupun tikus terjadi 24 jam setelah terjadi fertilisasi. Pembelahan embrio menjadi 4 sel terjadi pada 12 jam setelah pembelahan embrio 2 sel dan embrio menjadi 8 sel terjadi 12 jam kemudian setelah embrio membelah menjadi 4 sel. Pada mencit maupun tikus embrio 8 sel disebut dengan morula (Hafez, 1993).

2. 6. Tinjauan Tentang Antifertilitas.

Antifertilitas adalah suatu bahan yang dapat mempengaruhi secara fisiologis sistem reproduksi hewan betina maupun jantan dengan tujuan untuk mencegah terjadinya kebuntingan. Suatu bahan antifertilitas yang menghambat proses ovulasi dan menghambat terjadinya fertilisasi disebut dengan kontasepsi. Sedangkan bila menghambat sesudah proses implantasi disebut dengan abortivum (Meles dan Sastrowardoyo, 2001).

Bahan yang digolongkan sebagai antifertilitas dapat bekerja pada berbagai tempat didalam tubuh yaitu pada poros hipotalamus - hipofise, ovarium, tubafalopi, uterus dan pada proses spermatogenesis. Bahan antifertilitas yang bekerja pada ovarium dapat mempengaruhi proses pembentukan folikel dan proses ovulasi. Bahan antifertilitas yang bekerja pada tuba falopi dapat mempengaruhi transportasi ovum maupun spermatozoa, proses fertilisasi dan

transport dari zygot. Bahan antifertilitas yang bekerja pada uterus dapat mempengaruhi proses implantasi, organogenesis dan perkembangan foetus. Sedangkan bahan antifertilitas yang bekerja pada poros hipotalamus - hipofise mempunyai aktifitas anti gonadotropin, dengan mekanisme umpan balik negatif dari hipotalamus yang menyebabkan penurunan GnRh. Hal ini akan berpengaruh pada sekresi FSH dan LH dari hipofise anterior. Dengan adanya hambatan pada sekresi FSH dan LH, akan berpengaruh terhadap pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel serta proses ovulasi (Gomez, 2001). Sedangkan menurut Meles dkk, (1997) menyatakan bahan antifertilitas dapat bekerja pada satu tempat dan dapat pula bekerja pada beberapa tempat didalam tubuh dengan mekanisme kerjanya yang berbeda atau sebaliknya dapat pula bekerja pada tempat yang sama dengan mekanisme kerja yang berbeda.

Saat ini obat kontrasepsi oral yang efektif adalah senyawa turunan steroid, namun obat ini mempunyai banyak efek samping yang kurang menguntungkan sehingga perlu dilakukan pencarian obat antifertilitas baru yang mempunyai efek samping seminimal mungkin. Efek samping yang didapatkan pada kontrasepsi oral, dengan meminum pil setiap hari sebenarnya dapat dihindari dengan menggunakan pil yang diberikan sesudah koitus (*post coital contraception*) atau pemberian pil yang diberikan sebulan sekali (*one pill a month contraception*). Kontrasepsi model ini harus dapat mempengaruhi salah satu tingkat proses fertilisasi misalnya mempengaruhi transport/ aktivitas

spermatozoa/ mempengaruhi transport tubafalopii/ menghalangi implantasi embrio/ bersifat abortivum (Meles, 1997)

Badan Pangan dan obat-obatan Amerika Serikat (FDA) menyetujui penggunaan pil keluarga berencana pertama yang digunakan setelah berhubungan seks /setelah kumpul (Anonimus, 2001)

BAB 3

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian.

Berdasarkan adanya triterpenoid dan saponin yang terdapat didalam perasan *Achyranthes aspera linn* yang dapat menghambat sekresi gonadotropin, menghalangi fertilisasi dan pembelahan embrio maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan :

1. Mengetahui efek antifertilitas perasan daun *achyranthes aspera linn* terhadap jumlah sel telur dan embrio serta perkembangan sel embrio (*cleavage*) mencit.
2. Mengetahui efek antifertilitas perasan daun *achyranthes aspera linn* yang digunakan setelah hubungan seksual (*post coital contraception*).
3. Mengetahui variasi dosis perasan *Achyranthes aspera linn* yang mempunyai efek antifertilitas.

3.2. Manfaat Penelitian.

1. Keberhasilan penelitian ini merupakan landasan penelitian lebih lanjut yang lazim dilakukan terhadap lahirnya obat antifertilitas.
2. Sebagai obat antifertilitas akan sangat bermanfaat didalam membantu menekan laju pertumbuhan penduduk, mengingat tanaman *Achyranthes*

aspera linn merupakan tanaman asli Indonesia sebagai bahan baku obat antifertilitas.

3. Seperti diketahui bahan baku obat kontrasepsi masih harus didatangkan dari luar negeri. Dengan demikian swasembada dalam penyediaan bahan baku obat kontrasepsi oral sangat penting.

3.3. Hipotesa Penelitian.

Pemberian perasan daun *Achyranthes aspera linn* pada mencit betina secara peroral berpengaruh terhadap jumlah sel telur dan embrio serta pembelahan sel embrio (*cleavage*).

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Bahan-bahan

- Perasan daun *Achyranthes aspera linn*
- Media TCM 199 dan M16 untuk flushing alat kelamin mencit

4.2. Alat-alat.

- S spuit disposibel dengan jarum tumpul yang berfungsi untuk meminumkan perasan daun *Achyranthes aspera linn*.
- Timbangan, untuk menimbang berat badan mencit.
- Mikroskop inverted, untuk melihat kantong fertilisasi, sel telur dan embrio
- Alat-alat bedah, untuk laparatomi.
- Petri disk dan alat flushing

4.3. Hewan Percobaan.

Hewan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*), yang diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma Surabaya, berumur 45 hari, dengan berat badan 20-25 gram dan telah siap kawin. Selanjutnya mencit tersebut dibiakkan sendiri agar mendapat umur yang sama untuk digunakan sebagai hewan percobaan. Sedangkan mencit jantan yang dipergunakan



sebagai pejantan yaitu yang pernah membuntingi mencit betina. Pengelompokan mencit dilakukan secara acak.

4.4. Eksplorasi Dosis.

Penentuan dosis perasan daun *Achyranthes aspera linn* sebagai obat antifertilitasi berdasarkan atas metoda yang digunakan oleh Wagner dan Wolff (1977). Dosis efektif perasan daun *Achyranthes aspera linn* sebagai antifertilitas yang dilakukan oleh Wurlina (2000) adalah konsentrasi 3 %.

4.5. Cara Kerja.

Sesudah hewan percobaan beradaptasi terhadap lingkungan dan persyaratan untuk pengujian antifertilitas terpenuhi maka 100 ekor mencit betina yang dibagi dalam 4 kelompok, yang masing-masing kelompok terdiri dari 25 ekor.

Kelompok I: Diberi perasan AAL saat terlihat vagina plug

Kelompok II: Diberi perasan AAL 24 jam setelah terlihat vagina plug

Kelompok III: Diberi perasan AAL 36 jam setelah terlihat vagina plug

Kelompok IV: Diberi perasan AAL 48 jam setelah terlihat vagina plug

Tiap-tiap kelompok dibagi menjadi 4 perlakuan, yang masing-masing sub kelompok terdiri dari 5 ekor. Keempat perlakuan tersebut adalah sebagai berikut::

Perlakuan 1 : Kelompok kontrol, diberi NaCl fisiologis 0,5 ml secara peroral.

Perlakuan 2 : Diberi perasan AAL konsentrasi 3 %

Perlakuan 3 : Diberi perasan AAL konsentrasi 10 %

Perlakuan 4 : Diberi perasan AAL konsentrasi 30 %

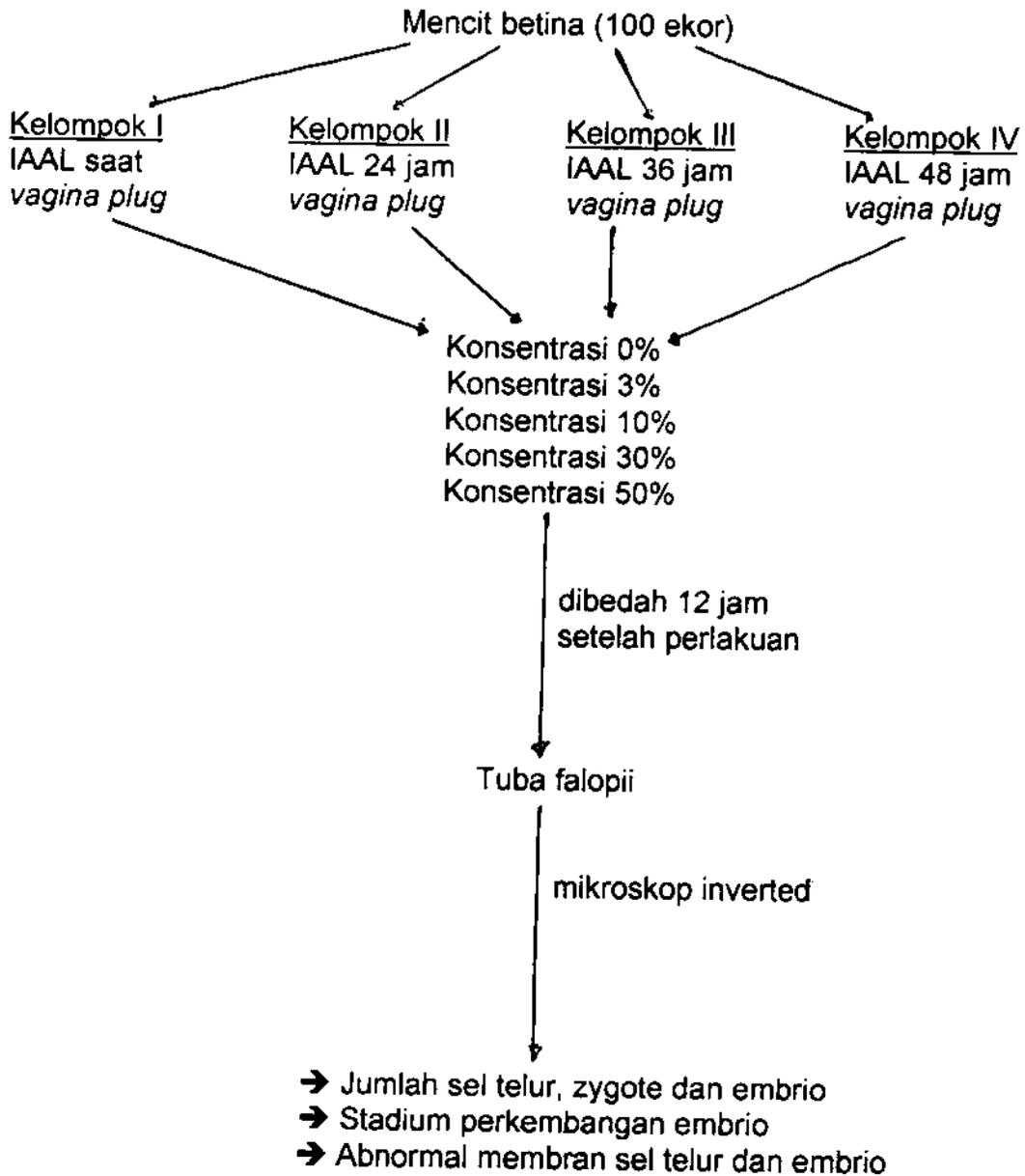
Perlakuan 5 : Diberi perasan AAL konsentrasi 50 %

Pemberian NaCl fisiologis pada perlakuan 1 (kelompok kontrol) dan pemberian perasan daun *Achyranthes aspera linn* pada perlakuan 2, 3 dan 4 dilakukan hanya satu kali (dosis tunggal) sesuai kelompok dan perlakuan.

4.6. Pengujian Terhadap Antifertilitas

Setelah masa adaptasi selama 14 hari, mencit betina dikawinkan dengan pejantan dengan perbandingan 2 betina untuk satu pejantan. Selanjutnya mencit betina diamati terjadinya kopulasi dengan ditandai adanya sumbat vagina (*Vagina plug*). Mencit betina yang sudah kopulasi dipisahkan dari mencit jantan, kemudian mencit betina tersebut diberi perasan daun *Achyranthes aspera linn* secara peroral menggunakan sonde dengan dosis sesuai pengelompokan dan perlakuan untuk mengetahui efek antifertilitas. Masing-masing kelompok perlakuan dilakukan pembedahan untuk diambil alat kelaminnya 12 jam setelah perlakuan. Alat kelamin mencit dilakukan flushing menggunakan media TCM 199 dan M16 dan diperiksa menggunakan mikroskop inverted untuk mengetahui adanya kantong fertilisasi dan pembelahan embrio (*cleavage*) Parameter yang diamati adalah :

1. jumlah sel telur, zygote dan embrio
2. stadium pembelahan sel embrio
3. abnormalitas dengan terjadinya kerusakan membran



BAB 5

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah dilakukan penelitian menggunakan perasan daun *Achyranthes aspera* linn sebagai antifertilitas pada mencit, para meter yang diamati yaitu jumlah sel telur dan embrio, perkembangan embrio (*cleavage*) serta abnormalitas.

Hasil pemeriksaan terhadap jumlah sel telur, zygote, perkembangan embrio (*cleavage*) serta abnormalitas dapat dilihat pada Tabel 1.

Terjadinya penurunan jumlah zygote yaitu pada pemberian perasan daun *Achyranthes aspera linn* konsentrasi 10 % (P3). Pada tabel terlihat makin besar dosis perasan yang diberikan menyebabkan makin menurun jumlah zygote yang ditemukan. Hal ini disebabkan adanya kandungan triterpenoid yang menghambat terjadinya fertilisasi sehingga berakibat tidak terjadinya fertilisasi sehingga tidak terbentuknya zygote (Gomez dkk., 2001).

Menurut Nigg dan Seigler (1992) yang menyatakan flavonoid maupun alkaloid tanaman dapat berfungsi sebagai antispasmodik yang menyebabkan gangguan kontraksi tuba falopii menjadi berkurang sehingga dapat menyebabkan hambatan transportasi spermatozoa dan ovum ketempat fertilisasi. Menurut Hill dkk. (1996) dan Ward dkk. (2001) Reduksi pada tuba falopii dapat berpengaruh pada kontraksi dari fimbriae pada tuba falopii. Akibat tidak adanya kontraksi fimbriae maka transportasi ovum terganggu pula.

Tabel 1. Hasil jumlah sel telur, zygote, embrio (*cleavage*) dan abnormalitas

DOSIS	WAKTU PEMBERIAN INFUSA <i>ACHYRANTES ASPERA LINN</i>							
	TERLIHAT VAGINA PLUG		24 JAM SETELAH VAGINA PLUG		36 JAM SETELAH VAGINA PLUG		48 JAM SETELAH VAGINA PLUG	
Kontrol (0%)	Zygote normal		Embrio 4 sel normal		Embrio 8 sel normal		Embrio 16 sel normal	
	35 (100%)		38 (100%)		39 (100%)		37 (100%)	
P1 (3%)	Zygote normal		Embrio 4 sel normal		Embrio 8 sel normal		Embrio 16 sel normal	
	36 (100%)		37 (100%)		36 (100%)		36 (100%)	
P2 (10%)	Sel telur zygote		Embrio		Embrio		Embrio	
			2 sel	4 sel	4 sel	8 sel	8 sel	16 sel
	N	AN	AN	N	AN	N	AN	N
	18 (50%)	18 (50%)	19 (51,35%)	18 (48,65%)	20 (47,62%)	22 (52,38%)	19 (47,5%)	21 (52,5%)
P3 (30%)	Sel telur Abnormal		Embrio 2 sel Abnormal		Embrio 4 sel Abnormal		Embrio 8 sel Abnormal	
	35 (100%)		38 (100%)		37 (100%)		37 (100%)	
P4 (50%)	Sel telur Abnormal		Embrio 2 sel Abnormal		Embrio 4 sel Abnormal		Embrio 8 sel Abnormal	
	39 (100%)		36 (100%)		35 (100%)		36 (100%)	

N : Normal AN : Abnormal embrio 16 sel : Morula

Sedangkan akibat dari reduksi pada tuba falopii dapat menyebabkan kapasitas spermatozoa dan kesanggupan sel spermatozoa dalam menembus ovum menjadi terganggu sehingga fertilisasi akan terganggu pula, akibatnya zygote yang ditemukan setelah pemberian perasan daun *Achyranthes aspera linn* mulai

konsentrasi 10 % menjadi menurun, sedangkan pada konsentrasi 30 % fertilisasi dihalanagi sehingga tidak ditemukan zygote.

Flavonoid maupun alkaloid pada tanaman dapat menyebabkan reduksi pada tuba falopii dan sering dikaitkan dengan kejadian abortus pada golongan ruminansia dan syndroma infertilitas. Tanaman yang mengandung flavonoid maupun alkaloid mempunyai efek antifertilitas, efek ini diduga menyebabkan gangguan pada proses ovulasi dan fertilisasi. Dikatakan pemberian pakan pada ternak dengan waktu yang lama dapat menyebabkan atropi pada ovarium dan uterus sehingga dapat menyebabkan penurunan proses fertilisasi, gangguan pembelahan sel dan proses implantasi (Nigg dan Seigler, 1992).

Aktivitas gonadotropin pada golongan flavonoid dipengaruhi oleh adanya gugus hydroxy bebas dan kepadatan elektron sehingga semakin besar dosis perasan daun *Achyranthes aspera linn* yang diberikan maka jumlah gugus hidroxy dan kepadatan elektron makin besar sehingga berakibat antigonadotropin semakin besar. Antigonadotropin ini menyebabkan FSH dan LH dihambat sehingga siklus hormonal terganggu sehingga tidak mampu menyebabkan proses fertilisasi sehingga dapat menyebabkan penurunan jumlah zygote (Gomez dkk., 2001, Pantaleon dkk., 2001).

Pada tabel diatas terlihat pada pemberian perasan *Achyranthes aspera linn* konsentrasi 10 % saat terlihat *vagina plug* pada mencit mulai terjadi gangguan fertilisasi, pada kelompok ini tidak semua terjadi fertilisasi dan masih ditemukan sel telur. Triterpenoid dan saponin yang merupakan flavonoid tanaman yang

berpengaruh membran sel telur maupun embrio yang dapat menyebabkan pengkerutan membran sehingga integritas membran akan menurun (Tahiliani dan Kai, 2000; Mitaine dkk., 2001). Terganggunya integritas membran maka dapat berpengaruh terhadap terhadap fertilisasi dan pembelahan sel embrio (*cleavage*). Gangguan fertilisasi dapat terjadi akibat dari bentuk abnormal membran sel telur maupun bentuk sel telur.

Gill dkk.(2000) dan Juneja dkk.(2001) menyatakan golongan alkaloid maupun flavonoid tanaman dapat menyebabkan gangguan pada membran sel dengan berakibat komponen penyusun membran akan berubah dan proses fisiologi membran akan terganggu dengan terjadi kerusakan pengkerutan pada membran tersebut. Yamaginachi (1998) menyatakan perubahan karakteristik akibat bahan-bahan yang ditambahkan pada media fertilisasi akan terjadi perubahan lipid yang diketahui membantu pemasukan ion kalsium kedalam sel, sehingga dapat merangsang terganggunya ikatan membran dengan cAMP interseluler.

Semakin besar dosis perasan *Achyranthes aspera linn* yang diberikan berakibat semakin besar gangguan fertilisasi dan pembelahan sel embrio sehingga menyebabkan hanya ditemukan sel telur dan berhentinya pembelahan embrio. Hal ini disebabkan adanya triterpenoid dan saponin yang terkandung didalam perasan daun *achyranthes aspera linn* tersebut.

Embrio mulai berhenti membelah mulai pemberian perasan daun *Achyranthes aspera linn* konsentrasi 10 % dan pada konsentarsi perasan 30 %

embrio pada semua perlakuan berhenti membelah. Hal ini sesuai pendapat dari (Mitaine dkk. 2001) yang menyatakan pemberian glikosida triterpenoid mulai 14-18 jam setelah fertilisasi akan berakibat embrio berhenti membelah dan mengalami disosiasi menjadi sel tunggal. Hal ini dikatakan pula bahwa glikosida triterpenoid merupakan senyawa penghambat sintesis rRNA pada embrio. Pemberian glikosida triterpenoid pada stadia 8-16 sel dapat mencegah terjadinya diferensiasi blastomere. Laju normal sintesis protein diperlukan karena pada tahap akhir stadium pembelahan sel embrio (*cleavage*) kebutuhan akan protein semakin meningkat. Glikosida triterpenoid seperti aktinomisin D dapat menghambat sintesis protein dengan cara mencegah polimerisasi DNA dan menghambat transkripsi DNA.

Glikoprotein tuba falopii berperan dalam pembelahan sel embrio pada awal perkembangan, namun mekanismenya masih belum jelas (Hill dkk., 1996). Embrio tikus mensekresi platelet aktivitas Faktor (PAF) yang berperan sebagai indikator pada proses terjadinya fertilisasi, implantasi dan pemeliharaan dari korpus luteum (Geisert dkk., 1997, Pantaleon dkk., 2001).

Tidak terjadinya fertilisasi dan berhentinya embrio membelah (*cleavage*) pada mencit disebabkan adanya triterpenoid dan saponin yang terdapat pada tanaman *Achyranthes aspera linn* yang mempunyai efek antifertilitas dengan menyebabkan pengkerutan membran sel telur maupun embrio sehingga kemungkinan dapat digunakan sebagai bahan / obat antifertilitas yang digunakan setelah hubungan seksual (*post coital contraception*).

Menurut Nigg dan Seigler (1992) yang menyatakan flavonoid tanaman dapat berfungsi sebagai antispasmodik yang menyebabkan kontraksi tuba falopii menjadi berkurang sehingga menyebabkan hambatan transportasi spermatozoa dan ovum ketempat fertilisasi. Menurut Hill dkk. (1996) dan Ward dkk. (2001) Reduksi pada tuba falopii juga akan mempengaruhi kontraksi dari fimbriae pada tuba falopii. Akibat tidak adanya kontraksi fimbriae maka transportasi ovum terganggu pula. Terjadinya reduksi pada tuba falopii dapat menyebabkan kapasitas spermatozoa dan kesanggupan sel spermatozoa dalam menembus ovum menjadi terganggu sehingga fertilisasi akan terganggu pula, akibatnya zygote yang ditemukan setelah pemberian perasan daun *Achyranthes aspera linn* menjadi menurun mulai konsentrasi 10 %.

BAB 6

SIMPULAN DAN SARAN

6.1. Simpulan

1. Pemberian perasan daun *Achyranthes aspera linn* pada mencit menyebabkan tidak terjadinya fertilisasi dan berhentinya pembelahan embrio (*cleavage*) mulai konsentrasi 10 %.
2. Pemberian perasan daun *Achyranthes aspera linn* pada mencit mulai saat terlihat sumbat vagina sampai embrio 8 sel menyebabkan pembelahan embrio (*cleavage*) menjadi berhenti.
3. Pemberian perasan daun *Achyranthes aspera linn* pada mencit menyebabkan abnormalitas sel telur maupun embrio mulai konsentrasi 10 %.

6.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian variasi dosis efektif pemberian perasan *achyranthes aspera linn* mulai konsentrasi 10 % terhadap hambatan fertilisasi dan pembelahan embrio (*cleavage*).
2. Perlu dilakukan penelitian letak hambatan stadium pembelahan sel (*cleavage*) dengan menggunakan mikroskop elektron.
3. Perlu dilakukan uji toksisitas tanaman *Achyranthes aspera linn* sebagai bahan baku/ obat antifertilitas

DAFTAR PUSTAKA

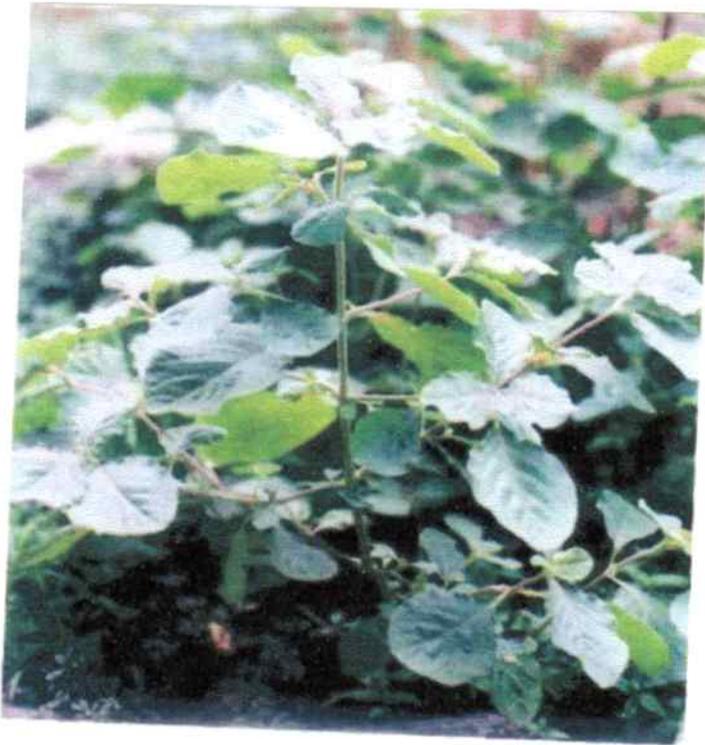
- Anonimus, 1978. Pelatihan Tanaman Sebagai Obat. Pusat Pendidikan dan Pelatihan. Singosari. Malang. Jawa Timur.
- Anonimus, 1998. WHO Catat Boom Obat Tradisional. Jawa Post. Oktober. Surabaya.
- Anonimus, 2001. Penduduk Indonesia 203,46 juta orang. Surya, Januari, Surabaya.
- Berg, A.J.J. 1987. Production of Anthraquinones Anthrones and Dianthrones by Plant Cell Culture of *Rhamnus Purshina* and *Rhamnus Frangulata* Proefschrift Utrecht Drukerti Elinkwijk B.V.
- Birch, A.J. 1994. Some Scientific and Social Implication of Research on Natural Products Impact of Science on Society. Vol126.
- Borrow, M.E; S.M. Bone; B.M.Coelin; L.I.Meinik; B.N.Duona; S.W.Canter; T.E.Wiese; T.E.Cleveland and J.A.Mc.Lachlan. 2001. Phytochemical Gliceolins Isolated from Soy Mediate Antihormonal Effect Through Estrogen Receptor Alpha and Beta. *J.Clin. Endocrinol Metab.* Apr. 86(4) 1750-8.
- Chakraborty, A; A.Branther; T.Mukainaka; T.Konoshima; H.Tokuda and H.Nishino. 2002. Cancer Chemopreventive Activity of *Achyranthes Aspera* Leaves on Epstein Barr Virus Activation and Two-stage Mouse Skin Carcinogenesis. *Cancer Lett.* Mar 8:177(1) 1-5.
- Chang, H.M and H.P.P. But. 1997 *Pharmacology and Applications of Chinese Materia.* Vol.2. Word Scientific Publishing. Co Ptc. Ltd. Singapore.

- Cody, V, E.Middleton, J.B.Harborne and M.Borets. 1997. *Progress in Clinical and Biological Research. Plant Flavonoid in Biology and Medicine II. Vol 200.* Alan R Liss, Inc. New York.
- Farnworth, R.Norman, A.S.Bingel, G.Acordell, F.A.Crane and H.H.S.Fong. 1985. *Potential Value of Plant as Sources of New Antifertility Agents II. J Pharm. Sci. Vo. 64.*
- Gao, X.Y; D.W.Wang and F.M. Li. 2000. *Determination of Androsterone in Achyrantes Bidentata and its Activity Promoting Proliferation of Osteoblast-Like Cell. Yao Xue Xue Bao. Nov:35(11) : 868-70*
- Geisert, R.D, E.C.Short and G.L.Morgan. 1997. *Establishment of Pregnancy in Domestic Farm Species in Embryonic Mortality in Domestic Species. CRD.*
- Gibert, S.F. 1988. *Development Biology 2 nd Ed. Sinauer Associates Inc. Publisher Sunderland Massachusetts.*
- Gill, S.M.K; N.Balasinor and P.Parte. 2001. *Intermittent Treatment with Tamoxifen on Reproduction in Male Rat. Asian J. Androl. Jun. 3(2).155-8.*
- Gomez, Y, P.N. Velazquez, I.D. Pelalta, M.C.Mendez , F.Vilchia, M.A.O. Juarez and E.Pedernera. 2001. *Follicle Stimulating hormone Regulates Steroidogenic Enzymes in Culture Cells of The Chick Embryo Ovary. Gen Comp Endocrinol. Vol.121 (3).*
- Hafez, E.S.E. 1993. *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animal. Lea and Febiger. Philadelphia.*
- Hembing, W.H.M, A.S.Wirian, T. Yaputro, S.Dalimartha dan B.Wibowo. 1996. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia. Cet.4.*

- Hill, J.L., S.K. Walker, G.H. Brown and C.D. Nancarrow. 1996. The Effect of an Ovine Oviductal Estrus. Associated Glycoprotein on Early Embryo Development.
- Ida, Y.; Satch; M. Katsumata; Mnagasao; Y. Hirai; T. Kajimoto; N. Katada; M. Yasuda and Yamamoto. 1998. Two Novel Oleanolic acid Saponin Having a Sialyl Lewis X Mimetic Structure Achyranthes fauriei Root. Bioorg Med Chem. Lett. Sep. 22. 8(18): 2555-8.
- Jenkins, G.L., W.H. Hartung, K.E. Hamlin. 1997. The Chemistry of Organic Medicinal Products. John Wiley and Son'S. Inc New York.
- Juneja, P.; S.M.K. Gill; S. Dsouza; V. Padwai; N. Balasimor; M. Aleem and P. Parte. 2001. Antifertility Effect of Estradiol in Adult female Rat. J. Endocrinol. Invest. Sept. 24(98): 598-607.
- Klonoff, D.C. and J.H. Karam. 2001. Hypotalamic and Pituitary Hormone In Basic & Clinical Pharmacology. 7th. ed. a Lange Medical Book. P. 513-520.
- Lubis, Firman dan J. Prihartono. 1985. Natural Product and Their Contribution to Chinese Health. Impact of Science on Society. Vol. 136.
- Mardisiwojo, S dan H.R. Kusuma. 1968. Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang. Cet. III.
- Meles, D.K dan Wurlina. 1997. Efek Antifertilitas Perasan Akar Pacar Banyu Pada Mencit. Lemlit Unair. Surabaya.
- Meles, D.K dan W. Sastrowardoyo. 2001. Efek Infusa Impatiens Balsamina Linn pada Stadium Pembelahan Sel (Cleavage) Dalam Upaya Pencarian Obat Antifertilitas. PPOT. Lemlit Unair.
- Mitaine, A.C; A. Marouf; B. Haquei; N. Bilirakis; M.A. Lacaille. 2001. Two Triterpenoid and Saponin From Achyranthes Bidentata. Chem. Pharm Bull. (Tokyo). Nov. 49(11) : 1492-4.

- Myers and Norman, 1994. *Wild Genetic Resources. Impact of Science on Society.*
- Nigg, H.N. and Seigler. 1992. *Phytochemical Resources for Medicine and Agriculture.* Planum Press. New York.
- Padmawinata, Kosasih dan S. Soetarno. 1985. *Tumbuhan Sebagai Sumber Bahan baku Kontrasepsi Steroid.* Kumpulan Naskah Simposium Kontrasepsi Steroid Nabati. Jakarta. FKUI/BKKBN>
- Pantaleon, M., J.P. Ryan, M. Gill and P.L. Kaye. 2001. *An Usual Subcellular Localization of GLUT 1 and Link With Metabolism in Oocytes and Preimplantation Mouse Embryos.* Biol Reprod. Vol.64(4).
- Santhanathan, A.H. and O.A. Trouson. 2000. *Mitochondrial Morphology During Preimplantation Human Embryogenesis.* J. Human of Reproduction. Suppl.2. p.148-159.
- Scott, L.; R. Alvero; M. Leondires and B. Miller. 2000. *Mitochondrial Morphology During Primplantation Human Embryogenesis.* J. Human of Reproduction Suppl.2. p.148-159.
- Tahiliani, P. and A. Kai. 2000. *Achyranthes Aspera Elevates Thyroid Hormone Levels and Decrease Hepatic Lipid Peroxidation in Female Rats.* J. Ethnopharmacol. Aug. 7(3): 527-32.
- Toelihere, M. 1985. *Ilmu Kebidanan pada Ternak sapi dan Kerbau.* UI Penerbit. Jakarta.
- Unchendu, C.N.; T.N. Kamalu and I.U. Asuzu. 2000. *A Preliminary Evaluation Antifertility of Triterpenoid Glicoside (DSS) from Dalbergia Saralitis in Female Wistar Rats.* Pharmacol Ras. May.41(5) 521-5.

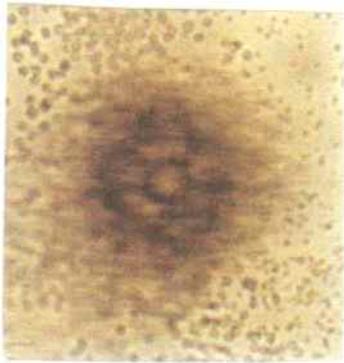
- Ward, F, D. Rizos, D. Corridan, K. Quinn, M. Boland and P. Leonargan. 2001. Paternal Influence on The Time of First Embryonic Cleavage Post Insemination and The Implications for Subsequent Bovine Embryo Development In Vitro and Fertility In Vivo. *Mol Reprod Dev.* Vol.60 (1).
- Wei, S; H. Liang; Y. Zhao and R. Zhang. 1997. Separation and Identification of The Compounds from *Achyranthes Bidentata*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* May 22(5) : 293-5, 319-20.
- Wurlina. 2000. Efek Antifertilitas infusa daun *Achyranthes Aspera* Linn Terhadap Siklus Birahi Pada mencit (Belum dipublikasikan).
- Yanagimachi, R. 1998. Mammalia Fertilization In: Knobil E. Neil. JD. *The Physiology of Reproduction.* Reven Press. Ltd. New York 5: 138-152.



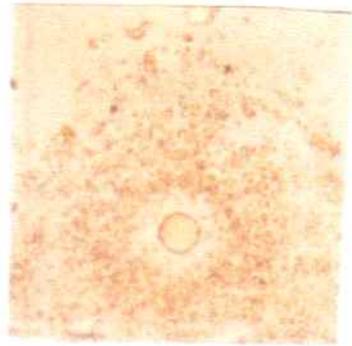
Gambar 2. Tanaman *Achyranthes Aspera* Linn



Gambar 3. Kantong Fertilisasi



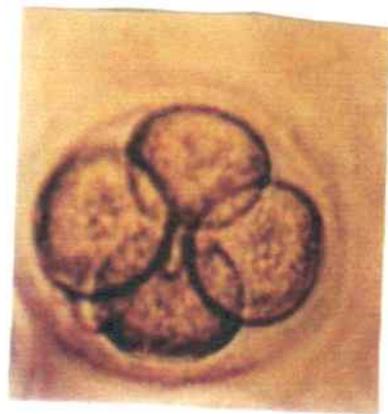
Sel telur



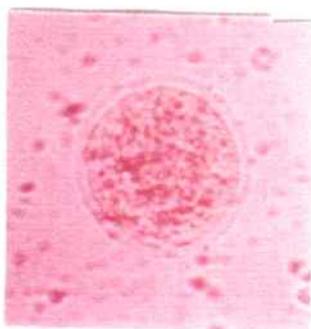
Zygote



Embrio 2 sel



Embrio 4 sel



Embrio 8 sel
(Morula)



Blastula

Gambar 4. Perkembangan embrio pada mencit

Lampiran 1. Jumlah perkembangan embrio mencit setelah pemberian AAL

DOSIS		WAKTU PEMBERIAN INFUSA <i>ACHYRANTES ASPERA LINN</i>							
		TERLIHAT VAGINA PLUG		24 JAM SETELAH VAGINA PLUG		36 JAM SETELAH VAGINA PLUG		48 JAM SETELAH VAGINA PLUG	
		zygote		embrio 4 sel		embrio 8 sel		embrio 16 sel	
		N	AN	N	AN	N	AN	N	AN
KONTROL	1	8	-	8	-	7	-	8	-
	2	6	-	7	-	7	-	7	-
	3	6	-	7	-	9	-	8	-
	4	7	-	8	-	8	-	7	-
	5	8	-	8	-	8	-	7	-
P1 KONT. 3%	1	8	-	7	-	8	-	6	-
	2	6	-	7	-	6	-	8	-
	3	6	-	8	-	6	-	8	-
	4	8	-	8	-	9	-	7	-
	5	8	-	7	-	7	-	7	-
P2 KONT 10%	1	4	2	3	3	4	4	3	5
	2	4	4	4	2	4	5	4	4
	3	3	4	3	5	5	4	4	3
	4	3	3	5	4	3	5	3	5
	5	4	5	4	4	4	4	3	4
P3 KONT 30%	1	-	6	-	7	-	8	-	7
	2	-	8	-	7	-	8	-	7
	3	-	8	-	8	-	7	-	8
	4	-	6	-	8	-	7	-	7
	5	-	7	-	8	-	7	-	8
P4 KONT 50%	1	-	8	-	8	-	8	-	7
	2	-	8	-	8	-	8	-	6
	3	-	7	-	6	-	6	-	6
	4	-	8	-	7	-	6	-	8
	5	-	8	-	7	-	7	-	9

N : Normal AN : Abnormal embrio 16 sel : morula AAL : *Achyranthes Aspera Linn*

Lampiran 2. Dosis perasan daun *Achyranthes aspera linn* pada mencit

- Daun *Achyranthes aspera linn* sebanyak 100 gram diblender dengan ditambahkan air sebanyak 50 ml.
- Selanjutnya diperas airnya dengan saringan dan terdapat 100 ml larutan dan 50 gram ampas daun.
- Larutan 100 ml terdiri dari air daun *Achyranthes aspera linn* 50 ml dan 50 ml air sehingga larutan tersebut mempunyai konsentrasi 50 %
- Dosis yang diberikan pada mencit adalah sebagai berikut :

P1 (kontrol) : 0,5 ml NaCl fisiologis

P2 : 0,5 ml perasan larutan 3 %

P3 : 0,5 ml perasan larutan 10%

P4 : 0,5 ml perasan larutan 30%

P5 : 0,5 ml perasan larutan 50%

- 1 JUL 2005

PAMERAN