

1 JUSTICIA
2 MEDICINAL PLANT

**EFEK INHIBITOR FRAKSI DIKLORMETAN DAN METANOL
DARI *Justicia gendarussa* Burm.f. TERHADAP ENZIM
HIALURONIDASE MENCIT**

KKB
KK-2
615.323 95.
Bam
e

Ketua Peneliti :

Drs. Bambang Prajogo E.W., MS.

9340 243-17 9141



LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

**Dibiayai Oleh : DRK DPP Unair 1996/1997
SK.Rektor Nomor : 6230/J03/PL/1996
Nomor : 17**



DEPARTEMEN PENYIARAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN

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

Kampus C, Jl. Mulyorejo Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5995246, Surabaya 60115

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. a. Judul Penelitian : Efek Inhibitor Fraksi Diklormetan Dan Metanol Dari Justicia gendarussa Burm.f Terhadap Enzim Hyaluronidase Mencit
- b. Macam Penelitian : (V) Fundamental, () Terapan, () Pengembangan () Institusional
- c. Katogori Penelitian : (V) I () II () III () IV
2. Kepala Proyek Penelitian
- a. Nama Lengkap Dengan Gelar : Drs. Bambang Prajogo E.W., MS.
 - b. Jenis Kelamin : Laki-Laki
 - c. Pangkat/Golongan dan NIP : Penata/IIIc/131 470 993
 - d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
 - e. Fakultas/Puslit/Jurusan : Farmasi/Biologi Farmasi
 - f. Univ./Inst./Akademi : Universitas Airlangga
 - g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : MIPA/Farmasi
3. Jumlah Tim Peneliti : 3 (tiga) orang
4. Lokasi Penelitian : Fakultas Farmasi Unair
5. Kerjasama dengan Instansi Lain
- a. Nama Instansi :
 - b. A l a m a t :
6. Jangka Waktu Penelitian : 6 (enam) bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : Rp 2.250.000,00
8. Seminar Hasil Penelitian
- a. Dilaksanakan Tanggal : 9 April 1998
 - b. Hasil Penilaian : () Baik Sekali () Baik (V) Sedang () Kurang

Surabaya, 9 April 1998



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

Prof. Dr. Noor Cholies Zaini f
Telp. 130 355 372

RINGKASAN PENELITIAN

Judul Penelitian	: Efek inhibitor fraksi diklormetan dan metanol dari <i>Justicia gendarussa</i> Burm.f. terhadap enzim hialuronidase mencit
Ketua Peneliti	: Bambang Prajogo E.W.
Anggota	: Aucky Hinting Herry Agoes Hermadi
Fakultas/Puslit	: Fakultas Farmasi Unair
Sumber biaya	: SPP/DPP Unair 1996/1997 SK. Rektor No. 6230/JO3/Pl./1996 Tanggal 30 Juli 1996

Justicia gendarussa Burm.f. (Acanthaceae) merupakan tumbuhan obat yang banyak digunakan untuk obat luar seperti bentuk tapal untuk penurun panas dan nyeri, ada yang berpendapat bahwa sangat beracun bila digunakan *per oral*. Berdasar etnomedisin, daun gandarusa (nama daerah) digunakan untuk bahan obat KB pria di pedalaman Irian Jaya. Untuk membuktikan bahwa bahan ini berkhasiat antifertilitas pria telah dilakukan beberapa penelitian pendahuluan terhadap hewan coba mencit, tikus, kelinci dan bahkan manusia *in vitro*. Uji khasiat yang telah dilakukan meliputi efek spermatogenesis, spermisida, gangguan alfa glukosidase, akrosin dan hialuronidase.

Penelitian yang dilakukan ini merupakan rangkaian dari penelitian sebelumnya yang menekankan pada efek hambatan hialuronidase spermatozoa dalam mendispersikan kumulus ooforus mencit *in vitro*. Bahan yang diberikan dalam bentuk fraksi diklormetan dan metanol daun gandarusa dari hasil maserasi. Sedangkan mencit jantan maupun betina yang digunakan berasal dari strain balb c, dibagi 7 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor mencit (6 kelompok perlakuan dan 1 kontrol). Dosis yang diberikan masing-masing setara dengan 1,25 g/kg, 2,5 g/kg dan 3,75 g/kg serbuk kering daun. Hasil yang diperoleh fraksi diklormetan dengan dosis 0,052 g/kg, 0,105 g/kg dan 0,157 g/kg, fraksi metanol 0,372 g/kg, 0,75 g/kg dan 1,122 g/kg. satu kali sehari selama 35 hari.

Uji hambatan hialuronidase dengan menghitung jumlah spermatozoa dan jumlah sel granulosa serta melihat terjadinya fertilisasi dari hasil 4 jam setelah fertilisasi *in vitro* baik pada kelompok perlakuan maupun kontrol. Data yang diperoleh diuji menggunakan Anava.

Hasil penelitian baik pada kelompok perlakuan semua dosis dari fraksi diklormetan dan metanol maupun kontrol terjadi fertilisasi dan jumlah sel spermatozoa dan sel granulosa tidak ada beda ($p > 0,05$). Selanjutnya pada kultur hasil fertilisasi dari kelompok perlakuan tidak berkembang sedang pada kontrol dapat membentuk morula sampai dengan blastula.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji dan syukur ke hadirat Allah swt. atas rahmatnya kepada kami selama ini, hingga dapat menyelesaikan proyek penelitian yang dibiayai oleh dana SPP/DPP Unair 1996/1997.

Pada kesempatan ini perkenankanlah kami menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Lembaga penelitian Unair yang telah memberikan kesempatan kepada kami sehingga dapat menggunakan fasilitas dana penelitian SPP/DPP unair 1996/1997
2. Jurusan Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Unair yang telah menyediakan fasilitas selama kami melakukan penelitian.
3. Ibu Dr. Widjati, MS, dari Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Unair yang telah membantu serta dalam pengerjaan penelitian ini

Akhirnya, terima kasih juga kami sampaikan kepada semua pihak yang tidak sempat kami sebutkan satu demi satu yang telah membantu ataupun memberikan dorongan kepada kami dalam menyelesaikan penelitian ini.

Semoga Allah swt. Senantiasa memberikan balasan yang melimpah.

Surabaya, 3 Maret 1998

Penulis

DAFTAR ISI

halaman

RINGKASAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR TABEL	vi
BAB I PENDAHULUAN	
1. Latar belakang permasalahan	1
2. Perumusan masalah	4
3. Tujuan penelitian	5
4. Hipotesis	6
5. Manfaat penelitian	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
1. Tanaman <i>Justicia gendarussa</i> Burm.f.	8
2. Tinjauan tentang flavonoid	10
3. Tinjauan tentang spermatozoa	11
4. Tinjauan tentang ovum	14
5. Tinjauan tentang fertilisasi	15
BAB III. METODE PENELITIAN	
1. Bahan penelitian	17
2. Alat-alat	17
3. Cara penelitian	18
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	20
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	31
DAFTAR PUSTAKA	35

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 1. : Tanaman <i>Justicia gendarusa</i> Nees	21
Gambar 2. : Histogram jumlah sel granulosa 4 jam setelah IVF.....	25
Gambar 3. : Histogram jumlah sel spermatozoa 4 jam setelah IVF ..	26
Gambar 4. : Sel spermatozoa menciit.....	28
Gambar 5. : Sel telur menciit	29
Gambar 6. : Tahap terbentuknya morula dari sel telur terfertilisasi ..	30

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. : Data jumlah sel granulosa dan sel spermatozoa mencit 4 jam setelah fertilisasi in vitro dari fraksi diklormetan.	22
Tabel 2. : Data jumlah sel granulosa dan sel spermatozoa mencit 4 jam setelah fertilisasi in vitro dari fraksi metanol.....	23
Tabel 3. : Ringkasan Anava dari jumlah sel granulosa	24
Tabel 4. : Ringkasan Anava dari jumlah sel spermatozoa	24
Tabel 5. : Data berat badan mencit selama perlakuan	27

BAB I PENDAHULUAN

1. Latar belakang permasalahan

1.1. Eksplorasi tanaman obat

Dunia tanaman banyak berlimpah dengan komponen senyawa yang dapat memberikan pengaruh pada hewan dan manusia. Sejumlah besar komponen ini menjadi petunjuk farmakologi, dan kira-kira seratus tanaman yang dapat digunakan sebagai obat di Amerika Serikat. Menurut hasil perhitungan 25 % resep-resep dari masyarakat antara tahun 1959 dan 1973 mengandung satu atau lebih ekstrak dengan komponen aktif dari tanaman tinggi (Farnsworth dan Waller, 1982).

Meskipun permintaan resep obat berasal dari tanaman menguntungkan, tanaman yang menghasilkan bahan berkhasiat belum diselidiki secara intensif, apalagi bahan-bahan untuk pemeliharaan kesehatan. Mengingat diperlukan biaya yang begitu besar untuk pengembangannya dan memerlukan waktu untuk memperoleh pengakuan dari FDA (Food and Drug Administration) Amerika Serikat.

Pengetahuan masyarakat di negara berkembang sangat besar ketertarikannya dalam pengembangan obat baru dari tanaman, dari pada industri-industri di negara maju. Kebanyakan di negara berkembang tanaman lebih memasyarakat dan dapat diterima oleh kultur budaya setempat.

Salah satu keuntungan dalam pengembangan bahan dari tanaman, tidak merupa-

kan hasil sintesis seperti obat modern, penggunaan tanaman untuk menunjang dalam sistem kesehatan banyak didasari pengalaman sejarah disamping potensi toksisitasnya rendah.

1.2. Tanaman obat sebagai antifertilitas pria

Sistem reproduksi pria terdiri dari jaringan dan struktur yang menyangkut produksi spermatozoa, penyimpanan dan transpor menuju ke saluran reproduksi wanita; berkaitan dengan metode kontrasepsi, maka harus ada usaha memotong atau menghambat salah satu sistem tersebut. Meskipun hormon atau atagonis hormon, steroid atau antagonis steroid mampu mengatur fertilitas pria, bahan itu juga berpengaruh pada jaringan bukan reproduksi, contohnya pada kasus kontrasepsi oral wanita. Oleh karena itu sangat berharga sekali kalau mengembangkan penghambatan fertilitas yang sangat selektif pada sistem reproduksi misalnya enzim tertentu, dan ada kemungkinan bahan ini berasal dari tanaman.

Beberapa tanaman sedang diselidiki pengaruhnya pada penghambatan fertilitas pria, diantaranya ada yang mempunyai kecenderungan dan menarik untuk dikaji. Jenis aktivitas antifertilitas pria dari tanaman yang sedang dikembangkan antara lain pengaruhnya pada spermisida, koagulasi dan likuifaksi semen, aglutinasi spermatozoa dan hambatan enzim spesifik spermatozoa (Farnsworth dan Waller, 1987)

Khusus pada hambatan enzim spesifik spermatozoa diperoleh dari penelitian biokimia yang menyangkut keterlibatan enzim dalam fertilisasi antara lain yang sangat penting adalah akrosin, hialuronidase dan *corona-penetrating enzyme* (CPE) (Zanaveld, 1976). Keberadaan ketiga enzim tersebut pada akrosom dari bagian kepala spermatozoa.

Setiap enzim mempunyai peranan yang sangat penting dalam fertilisasi. *Corona penetrating enzyme* berperan dalam penetrasi spermatozoa pada lapisan korona radiata. Hialuronidase berfungsi untuk membuka matrik kumulus ooporus, sedangkan zona pelucida diperankan oleh akrosin.

Bahan yang menghambat enzim hyaluronidase dapat mencegah fertilisasi tanpa melihat fungsi motilitas spermatozoa. Dilaporkan jenis flavonoid yaitu hesperidin pada tahun 1940 dan awal tahun 1950 dapat mencegah fertilisasi baik dengan pemberian oral maupun sistemik baik wanita maupun pria. Dari 300 pasangan fertil dengan dosis 100 mg/kg/hari *po* pada pria maupun wanita selama 3 – 30 bulan, hasilnya tidak ada efek samping dan kontrasepsi bersifat *reversible* setelah 48 jam (Zanaveld, 1972).

1.3. Tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f.

Justicia gendarussa Burm.f. (Acanthaceae) mempunyai beberapa sinonim ; yaitu *Justicia dahona* (Buch.) Ham., *Gendarussa vulgaris* Nees., *Justicia nigicans* Lour dan *Justicia salicina* Vahl. Mempunyai nama daerah gendarusa (Jawa), masyarakat memanfaatkan sebagai obat tradisional yang kadangkala ditanam juga sebagai tanaman pagar (Anonim, 1989)

Dari hasil survei di Irian Jaya dilaporkan bahwa tanaman *Gendarussa vulgaris* Ness dipergunakan masyarakat setempat untuk obat KB pria (Muso dan Agus, 1989). Selanjutnya pada penelitian pendahuluan infus daun gandarusa dapat menurunkan kadar testosteron tikus dan pada daun diketahui komponen dominan adalah golongan flavonoid (Bambang Prajogo dkk., 1994).

Dari daun gandarusa pada fraksi diklorometan baru ditemukan 2 senyawa murni golongan sterol, sedang fraksi metanol diketahui ada 8 jenis flavonoid (Bambang Prajogo, 1995). Studi antifertilitas fraksi diklorometana dan metanol daun tersebut menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa kelinci, spermatozoa epididimis mencit dan menghambat spermatogenesis mencit serta menurunkan daya disperi kumulus ooporus karena spermatozoa manusia *in vitro* (Ani, 1997; Reny, 1997 dan Sri, 1997).

Dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian antifertilisasi *in vitro* dari tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. pada mencit untuk membuktikan apakah tanaman tersebut dapat menghambat kerja enzim hialuronidase, sehingga dapat dikatakan sebagai inhibitor enzim hialuronidase.

Dipilihnya tanaman *Justicia gendarussa* Burm f sebagai bahan penelitian karena:

- a). merupakan tanaman obat, mudah tumbuh dan banyak di seluruh wilayah Indonesia
- b). menurut pengalaman sejarah sebagai digunakan obat KB pria, sehingga diduga bersifat mencegah terjadinya fertilisasi, khususnya hambatan kerja enzim hialuronidase.

2. Perumusan masalah

Dalam dekade terakhir ini sudah didengungkan untuk kembali ke alam (*back to nature*) dalam menjaga kesehatan, demikian pula dalam usaha pencarian obat baru lebih mudah kalau dikembangkan yang asalnya dari tanaman.

Berdasar pada Sistem Kesehatan Nasional dimana ditekankan bahwa pengobatan tradisional yang berdaya guna dan berhasil guna akan dibina, dibimbing dan dimanfaatkan.

kan untuk pelayanan kesehatan, maka perlu dilakukan penelitian dan pengujian secara ilmiah terhadap tanaman obat Indonesia.

Tanaman obat yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional beberapa diantaranya mempunyai indikasi pemakaian empiris berkaitan dengan fertilitas. kemungkinan besar dapat berupa bahan kontrasepsi.

Dari hasil penelusuran bahwa tanaman *Gendarussa vulgaris* Ness merupakan tanaman yang belum banyak dilakukan penelitian meskipun tergolong tanaman obat, sebagai antifertilitas diduga mekanismenya menghambat kerja enzim spesifik pada proses fertilisasi.

Obat yang tergolong sebagai kontrasepsi, memiliki aspek klinis yang luas, mengingat penduduk Indonesia nomor 4 di dunia yang terpadat dan perlu pengereman laju pertumbuhan penduduk untuk meningkatkan kesejahteraan rakyatnya. Apalagi selama ini sebagian besar akseptor KB lebih banyak pada wanita, sedangkan untuk obat KB pria belum ada sama sekali.

Tanaman *Gendarussa vulgaris* Ness banyak didapat, mudah tumbuh di semua lokasi dan sudah populer di masyarakat karena selain sebagai tanaman pagar juga sebagai obat tradisional salah satunya sebagai obat KB pria.

3. Tujuan penelitian

3.1. Tujuan umum

Meningkatkan mutu dan peran pengobatan tradisional dengan ramuan asli Indonesia sebagai pengobatan alternatif, dalam rangka meningkatkan sistem Pelayanan Kesehatan Nasional agar lebih meluas dan merata.

Melakukan penelitian yang lebih meluas dan mendalam terhadap tanaman obat asli Indonesia agar lebih berdaya guna dan hasil guna.

Mendukung penelitian khasiat dan eksplorasi tanaman obat Indonesia yang memiliki aktivitas biologik berkaitan dengan antifertilitas.

3.2. Tujuan khusus

Untuk mengetahui dan membuktikan apakah fraksi diklormetan dan metanol tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. yang diberikan *per oral* dapat menghambat enzim hialuronidase spermatozoa pada fertilisasi *in vitro* mencit dengan efek mencegah penetrasi spermatozoa pada ovum

4. Hipotesis

Fraksi diklormetan dan metanol dari *Justicia gendarussa* Burm.f. dapat menghambat aktivitas enzim hialuronidase spermatozoa mencit pada fertilisasi *in vitro*.

5. Manfaat penelitian

Menunjang program pemerintah dalam upaya mengembangkan pengobatan tradisional di masa mendatang, yang berlandaskan pada peningkatan pelayanan kesehatan yang lebih merata dan meluas, serta memelihara dan mengembangkan warisan budaya bangsa.

Mendukung penelitian dan pengembangan tanaman obat Indonesia dengan aspek baru di bidang antifertilitas yang masih sedikit dilakukan, dengan hasil penelitian ini dapat digunakan untuk melengkapi acuan penelitian sejenis.

Membantu melengkapi metoda eksplorasi tanaman obat Indonesia yang pemakaiannya berkaitan dengan antifertilitas.

Meningkatkan status pemakaian tanaman obat *Justicia gendarussa* Burm.f. dari bersifat empirik tradisional menuju bersifat ilmiah, sehingga pemanfaatannya dalam pengobatan lebih berdaya guna dan berhasil guna.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

1. Tinjauan tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f.

1.1. Klasifikasi tanaman

Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermeae
Kelas	: Dicotyledonae
Anak kelas	: Sympetale
Bangsa	: Scrophulariales
Suku	: Acanthaceae
Marga	: <i>Justicia</i>
Jenis	: <i>Justicia gendarussa</i> Burm.f.
Sinonim	: <i>Justicia gendarussa</i> Nees <i>Justicia dahona</i> (Buch) Ham <i>Justicia vulgaris</i> Lour <i>Justicia salicina</i> Vahl (Banson, 1968; Baeker and Van Den Brink, 1965).

1.2. Nama daerah

Justicia gendarussa Burm.f. mempunyai nama daerah sebagai berikut :

Sumatera (Aceh)	: besi-besi
Melayu	: gandarusa
Sunda -	: handarusa

Jawa	: gandarusa, telesan, trus
Madura	: ghandarusa
Bima	: gandarisa
Maluku (Ternate)	: puli (Heyne, 1950; Siti, 1996).

1.3. Penyebaran dan tempat tumbuh

Tempat tumbuh asal tanaman ini tidak diketahui, daerah penyebaran terutama di daerah tropis termasuk Indonesia. Di Jawa terdapat di dataran rendah sampai pada ketinggian 500 m dari permukaan laut. Pada umumnya ditanam sebagai pagar hidup dan juga tumbuh liar secara lokal di batas kawasan hutan dan di tanggul sungai (Siti, 1996).

1.4. Morfologi tanaman

Gendarussa vulgaris Nees merupakan tanaman setengah perdu tegak, sering bercabang banyak. Tinggi 0,7-1,5 m. **Batang**, segi empat atau cukup bulat yang muda ungu dan mengarah ke warna tua coklat untuk bagian batang tua. **Daun**, bagian tangkai daun 5-8 mm, helai daun berbentuk lanset, beringspit lebar dan tidak dalam. **Bunga**, berkumpul dalam malai sangat sempit, panjang 3-12 cm yang tersusun dari anak payung menggarpu yang rata, daun pelindung kecil, sempit, runcing. Mahkota gundul, tabung pucat, berbintik ungu. Pinggiran mahkota berbibir dua, bibir bawah bentuk bajihingga bulat telur terbalik dengan 3 taju membulat pendek, putih, berbentuk ungu. Tangkai putik gundul 6-10 mm (Van Stenenis, 1949).

1.5. Kandungan tanaman.

Kandungan kimia yang terdapat pada tanaman ini antara lain alkaloid yang beracun, steroid, triterpen, flavonoid, iridoid kumarin dan kahun (Hidayat, 1983; Bambang Prajogo dkk., 1997; Dikiet, 1995).

1.6. Kegunaan tanaman

Gendarussa vulgaris Nees. Sering digunakan sebagai bahan ramuan obat tradisional. Bagian tanaman yang digunakan pada umumnya adalah akar dan daun. Daun, digunakan sebagai obat encok, obat sakit kepala, obat sakit pinggang, bisul, memar keseleo dan sematik. Akar, sebagai obat cupak, upas putih dan malaria (Siti, 1996). Akar dan daun, sebagai obat kontrasepsi pria dan ramuan dibuat dengan merebus akar dan daun *Gendarussa* dan airnya diminum dua kali dalam sebulan (Moeso dan Agus, 1985).

2. Tinjauan tentang flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propan (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid dan 1,1-diarilpropan atau neoflavonoid.

Senyawa Flavonoid terdiri atas beberapa jenis, bergantung pada tingkat oksidasi dari rantai propan dari sistem 1,3-diarilpropan. Dalam hal ini, flavan mempunyai tingkat

oksidasi yang terendah sehingga senyawa ini dianggap sebagai senyawa induk dalam tatanama senyawa-senyawa turunan flavon. Dari berbagai jenis flavonoid tersebut, flavon, flavonol dan antosianin adalah jenis yang banyak ditemukan di alam, sehingga sering disebut sebagai flavonoid utama, sedang yang lain jumlahnya terbatas. Seperti diketahui flavonoid adalah senyawa fenol yang banyak ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan karena banyaknya variasi struktur, akan tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi dari struktur tersebut (Griffiths, 1982)

Beberapa jenis flavonoid yang berklasifikasi sebagai antioksidan pria antara lain : (-)-katekin, kuantan, dehidrokuersetin, eriodiktitol, naringenin, hesperidin, rutin, santorhamnol, kuersetin, ramnetin, tektorigenin (Farnsworth and Waller 1982, Middleton and Kandaswami, 1990).

3. Tinjauan tentang spermatozoa

Spermatozoa terbentuk sebagai hasil transformasi spermatid yang haploid. Selama proses spermatogenesis, materi nukleus spermatid didapatkan membentuk kepala spermatozoa. Sedangkan sitoplasmanya direduksi dan berubah menjadi menjadi bagian tengah dan ekor. Organel sel kompleks golgi membentuk kap diatas nukleus dan dinamakan akrosom..

Spermatozoa mempunyai struktur yang cukup padat dan tidak mudah terdispersi kecuali membran plasma (Polakoski and Zeneveld, 1976). Bila terjadi reaksi akrosom membran plasma lepas dan hilang dari permukaan anterior akrosom. Kejadian tersebut diikuti dengan pelepasan enzim akrosom sedikit demi sedikit (Flechon and Hafez, 1976).

Menurut Hartono dan Hartono (1995) dan Siregar (2007) ada enam kandungan enzim yang esensial untuk proses fertilisasi. Enzim-enzim tersebut antara lain: hialuronidase, aktosin, enzim penetrasi korona (EPK), neuronidase, ATP-ase, asam fosfatase, aspartil amidase dan β -glukoronidase (Polakoski and Zeneveld, 1976).

Hialuronidase, berfungsi untuk mendispersikan kumulus ooforus dan dengan demikian memungkinkan spermatozoa menembus lapisan terluar dari ovum.

Enzim penetrasi korona (EPK), berfungsi dalam proses penembusan spermatozoa pada korona radiata, sehingga korona radiata akan pecah. Aktivitas enzim ini dipengaruhi oleh faktor dekapitasi yang dilepaskan selama perjalanan spermatozoa melalui traktus genitalia betina.

Aktosin, berespon dalam proses penembusan spermatozoa melalui zona pelusida. Aktivitas aktosin akan terganggu oleh inhibitor dan faktor penyalutan yang melekat pada permukaan dan dilepaskan pada saat penetrasi spermatozoa melalui zona pelusida.

ATP-ase, mempengaruhi aktosom untuk mengadakan kapasitas.

Glukoronidase, berfungsi untuk memecah tetrasakarida yang dihasilkan oleh enzim hialuronidase dari asam hialuronat.

Enzim fosfatase dan enzim aspartil amidase, kedua enzim tersebut belum diketahui fungsinya.

3.1 Fungsi spermatozoa

Dalam hal kemampuan spermatozoa pada proses fertilisasi maka spermatozoa pada dasarnya mempunyai beberapa fungsi yang harus dipenuhi, antara lain: migrasi, akrosin

dan penetrasi. Pertama tentang migrasi, spermatozoa mulai bergerak di dalam epididimis, selama transportasi spermatozoa dengan menggunakan ATP sebagai sumber utama untuk bergerak maupun keperluan biosintesis. Energi spermatozoa terutama berasal dari proses glikolisis. ATP merupakan energi utama untuk menggerakkan flagela spermatozoa dan telah dibuktikan adanya korelasi antara prosentase spermatozoa yang mempunyai motilitas sangat baik dengan konsentrasi ATP. Dalam perjalanan spermatozoa memperlihatkan berbagai sifat pergerakan, sehubungan dengan media lingkungan yang dilewati. Spermatozoa dalam tubuli seminiferi tidak menunjukkan pergerakan, baru dalam epididimis ini spermatozoa akan mengalami pematangan dan mampu bergerak sendiri. Spermatozoa dalam vagina dihadapkan kemungkinan-kemungkinan yang lebih membahayakan untuk kehidupan dan pergerakannya. Terutama disebabkan oleh karena pH yang asam di vagina (pH 3-4). Pada masa subur lendir serviks mempunyai pH 7-7,8 yang sesuai untuk spermatozoa, sehingga penetrasi ke dalam lendir serviks cepat terjadi. Faktor-faktor yang mempengaruhi motilitas spermatozoa : 1) kualitas sperma yang ditentukan oleh morfologi spermatozoa, pH dan viskositas, 2) waktu, frekuensi antar ejakulasi, 3) suhu dan 4) radiasi elektromagnetik (Hafez, 1977). Transport spermatozoa dalam saluran reproduksi wanita ada 3 jenis : a) *rapid and short term*, b) *colonization* dan c) *slow release transportation*. Kedua, proses *binding* merupakan ketegaran membran spermatozoa yang terdiri dari lipida. Kelompok sulfhidril pada membran memegang peranan penting, karena perubahan menjadi disulfida berkaitan dengan maturasi spermatozoa. Perubahan reaksi antara S-H dan S-S berpengaruh pada motilitas, metabolisme dan daya tahan hidup spermatozoa. Lipida pada plasma membran atau plasmalema berkaitan pula transmisi reseptor biokimia dari luar ke dalam sel

terjadi pada saat fertilisasi. Setelah fertilisasi, sel telur yang telah dibuahi akan bermetabolisme dan menghasilkan energi untuk mendukung perkembangan embrio. Energi ini diperoleh dari luar seperti obat bius yang dalam fertilisasi setelah penetrasi spermatozoa dalam sitoplasma sel telur pada akhirnya akan terjadi bentalan, meiosis dan diawali pembelahan zygot. Kejadian genetik dan kromosom haploid pria berpasangan dengan kromosom haploid wanita, membentuk kromosom diploid tunggal. Pada penetrasi di kumulus ooforus diperlukan fasilitas dengan melepaskan hialuronidase. Hialuronidase efektif menghidrolisa kumulus ooforus. Selanjutnya zona pelusida hanya dapat dihidrolisa oleh enzim proteolitik, yaitu akrosin dan tidak dapat dengan hialuronidase. Spermatozoa mencapai zona pelusida awalnya dengan bagian kepala spermatozoa pada permukaan sel telur, selanjutnya dengan posisi paralel. Selama penetrasi di seluruh zona pelusida dan masuk ke subzona (perivitelline) dalam waktu beberapa menit (Enders, 1970).

4. Tinjauan tentang ovum

Permukaan ovum pada umumnya dilapisi oleh lapisan non seluler yang merupakan penghalang (barier), misal mantel lendir (jeli), membran vitelina dan sering juga didapatkan berier tambahan tersusun oleh sel seperti sel folikel yang membungkus ovum mamalia. Pada waktu siap difertilisasi ovum manusia diselimuti oleh tiga lapisan dari luar ke dalam yang meliputi kumulus ooforus, korona radiata dan zona pelusida. Dua lapisan pertama terdiri dari sel-sel yang tertata dalam aranse yang teratur. Sedangkan lapisan ketiga merupakan lapisan non seluler dan terdiri dari mukopolisakarida dan makroprotein. Ovumnya sendiri dilapisi oleh membran vitelina. Antara membran vitelina dan zona

leusida terdapat ruangan yang dinamakan ruangan perivitela. Susunan ovum dan lapisan yang menyelimuti dapat dilihat pada gambar berikut (Palokoski and Zeneveld, 1976)

5. Tinjauan tentang fertilisasi

fertilisasi merupakan pertemuan gamet jantan (spermatozoa) dengan gamet betina (ovum). Sebelum terjadinya proses tersebut spermatozoa dan ovum mengalami beberapa proses reaksi sebagai berikut :

5.1. Reaksi kapasitasasi

Spermatozoa mamalia termasuk manusia secara alami dapat membuahi ovum apabila telah berada dalam traktus genitalia betina selama beberapa saat, hal tersebut diperlukan karena disini spermatozoa mengalami reaksi kapasitasasi. Proses kapasitasasi tersebut terjadi didalam uterus dan tahap kedua berlangsung di tuba fallopii. Para ahli menduga bahwa proses tersebut berlangsung karena terjadi kontak spermatozoa dengan cairan folikel yang dikeluarkan pada saat ovulasi dan karena adanya cAMP (Suhana, dkk. 1982).

Pada spermatozoa mamalia reaksi akrosom didahului oleh reaksi kapasitasasi. Dalam proses kapasitasasi terjadi pelepasan inhibitor proteinase dan proses ini merupakan hal yang penting sekali karena inhibitor tersebut bila tidak dilepaskan akan menghambat kerja enzim proteinase yang terdapat dalam akrosom.

Dari penelitian yang telah dilakukan pada babi, diduga bahwa permukaan ovum diselimuti oleh reseptor yang konfigurasiya berkomplemen dengan molekul yang menyelimuti permukaan spermatozoa. Keduanya diberi nama fertilisin dan antifertilisin. penelitian berikutnya menduga bahwa bahan ini ditemukan dalam beberapa filum.

Menurut (David et al., 1991) dan (Mullapala et al., 2007) reaksi akrosom terjadi sebelum atau segera setelah kepala spermatozoa menempel pada ovum. Reaksi ini merupakan proses dimana membran akrosom spermatozoa berfusi dengan membran plasma sel telur. Pada reaksi ini terjadi fusi antara membran akrosom luar dengan membran plasma sehingga terbentuk pori-pori, dengan demikian enzim akrosom dapat keluar dan menghidrolisis lapisan-lapisan yang menyelimuti ovum. (David et al., 1991; Mullapala et al., 2007)

Menurut beberapa ahli reaksi akrosom terjadi sebelum atau segera setelah kepala spermatozoa menempel pada ovum. Pada reaksi ini terjadi fusi antara membran akrosom luar dengan membran plasma sehingga terbentuk pori-pori, dengan demikian enzim akrosom dapat keluar dan menghidrolisis lapisan-lapisan yang menyelimuti ovum.

5.2.. Tinjauan tentang asam hialuronat

Asam hialuronat adalah suatu mukopolisakarida asam terdiri dari unit ulangan n-asetilglukosamin dan asam glukoronat yang berikatan (1-4) dan asam glukoronat melekat pada n-asetil glukosamin berikutnya melalui ikatan (1-3) (Antoni and Michaels, 1992).

Asam hialuronat terdapat dalam bakteri dan terdispersi dalam berbagai mikroorganisme serta jaringan, termasuk dalam cairan sinovial, lensa mata dan sebagai perekat dalam jaringan penghubung (David et al., 1991). Dalam kumulus ooforus, asam hialuronat berfungsi sebagai perekat sel penyusun matriks kumulus ooforus.

BAB III

METODE PENELITIAN

1. Bahan Penelitian

1.1. Daun *Justicia gendarussa* Burm.f.

Daun gondorusa (nama daerah) dikumpulkan dari daerah Pacet Jawa Timur. Daun yang bersih dikeringkan dengan di angin-anginkan, setelah kering tumbuk halus.

1.2. Bahan kimia

Diklormetan	metanol
Medium M16	BSA (Bovine Serum Albumin)
Penisilin	streptomisin
PBS (Phosphat Buffer Saline)	PMSG (Foligon)
HCG (Chorulon)	Mineral oil

1.3. Hewan coba

Mencit jantan dewasa umur 3-4 bulan dan mencit betina umur 2 bulan dari strain balb.c dengan berat badan 25- 35 gram. Persyaratan lain kondisi mencit sehat, tidak ada kelainan pada bagian tubuhnya. Sebelum diperlakukan semua mencit di adaptasikan sesuai dengan kondisi lingkungan selama 1 minggu.

2. Alat-alat

Timbangan (gram, mg)	maserator
"Rotary evaporator"	"micro plate (nucleon)"

3. Cara Penelitian

3.1. Pembuatan ekstrak

Bahan serbuk daun gondorusa sehayak 750 gram, diekstraksi cara maserasi dengan pelarut diklormetan 2400 ml. Maserasi dilakukan 1 X 24 jam dimodifikasi dengan pengadukan dan diulangi 3 X. Filtrat diklormetan dikumpulkan dan diuapkan sampai diperoleh ekstrak kental.

Ekstraksi dilanjutkan terhadap sisa (ampas) dari ekstrak diklormetan, cara maserasi dengan pelarut metanol. Proses ekstraksi dilakukan seperti pada ekstraksi dengan diklormetan.

3.2. Perlakuan hewan coba

Sebanyak 70 ekor mencit dibagi dalam 7 kelompok perlakuan yang masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor. Pembagian kelompok terdiri 3 kelompok dari fraksi diklormetan (3 dosis), 3 kelompok dari fraksi metanol (3 dosis) dan 1 kelompok kontrol. Dosis yang diberikan dari masing-masing fraksi setara dengan berat bahan kering 1,24 g/kg, 2,5 g/kg dan 3,75 g/kg selama 35 hari. Pada hari ke 35 semua kelompok menci dilakukan pengambilan spermatozoa dari bagian cauda epididimis dan dikultur dan disimpan dalam inkubator CO₂.

3.3 Proses Fertilisasi *in vitro*

Koleksi oosit dilakukan tahap-tahap sebagai berikut

1. Melakukan super ovulasi dengan menggunakan PMSG dan HCG, yaitu mencit disuntik PMSG 5 IU, 2 hari kemudian disuntik dengan HCG 5 IU dan mencit langsung dikawinkan dengan pejantan vasektomi
2. Satu hari kemudian dilakukan pemeriksaan sumbat vagina, dan langsung dilakukan pembilasan terhadap betina-betina positif kawin.
3. Oosit yang telah dipanen dicuci dengan PBS sebanyak 3 X kemudian dengan medium IVF (in vitro fertilitation) sebanyak 3 kali, dan dipindahkan pada medium IVF.
4. Sperma dari pejantan, diambil dari bagian cauda epididimis, kemudian diambil dengan spatula kaca dan dibenamkan dalam medium IVF
5. Diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5 % selama 4 jam pada suhu 37 °C.
6. 4 jam kemudian dapat diamati adanya fertilisasi atau tidak dan dilakukan penghitungan sel spermatozoa dan sel granulosa dari setiap mencit
7. Bila ada oosit yang telah difertilisasi pindahkan ke medium kultur embuo lebih lanjut.

3.4 Analisa data

Data dikumpulkan berdasarkan pengamatan terhadap jumlah sel spermatozoa dan sel granulosa. Pada masing-masing data tersebut dianalisa statistik dengan rancangan penelitian acak sederhana (CRD) anava. Adapun penghitungan digunakan SPSS-S dari program Windows.

hasil penelitian.

1.1. Bahan penelitian

Dari hasil pengumpulan bahan segar daun gendarussa sebanyak 100 kg diperoleh serbuk kering sekitar 18 kg.

1.2. Hasil ekstraksi

Dari 750 gram serbuk kering daun didapatkan 31,5 gram ekstrak diklormetan dan 298,5 gram ekstrak metanol.

1.2. Hasil perhitungan jumlah dosis yang diberikan pada hewan coba

Kelompok 1 : 0,052 g/kg fraksi diklormetan hari *po*

Kelompok 2 : 0,105 g/kg fraksi diklormetan hari *po*

Kelompok 3 : 0,157 g/kg fraksi diklormetan hari *po*

Kelompok 4 : 0,372 g/kg fraksi metanol hari *po*

Kelompok 5 : 0,75 g/kg fraksi metanol hari *po*

Kontrol : merupakan kontrol negatif dan hanya diberi aqua.



Gambar 1. : Tanaman *Justicia gendarussa* Burm. f.

TABEL I
 DATA JUMLAH SEL GRANULOSA DAN SEL SPERMATOZOA MENCIT
 4 JAM SETELAH FERTILISASI *IN VITRO* (IVF) DARI FRAKSI DIKLORMETAN
 G = sel granulosa; S = Spermatozoa; S1 = dosis 1; S2 = dosis 2; S3 = dosis 3; K = kontrol

No	S1		S2		S3		K	
	G	S	G	S	G	S	G	S
1	77	53	32	45	54	32	122	37
2	82	57	86	42	28	23	-	-
3			46	36	44	21	122	47
4	28	78	42	36				
5			59	47	84	44		
6	60	23	33	50	87	37	62	37
7	74	30	42	32	55	36	63	41
8							103	26
9			39	33	67	42	72	24
10	62	48			47	58	86	22

TABEL 2
DATA JUMLAH SEL GRANULOSA DAN SEL SPERMATOZOA MENCIT
4 JAM SETELAH FERTILISASI *IN VITRO* (IVF) DARI FRAKSI METANOL
 G = sel granulosa; S = Spermatozoa; S1 = dosis 1; S2 = dosis 2; S3 = dosis 3; K = kontrol

No	S1		S2		S3		K	
	G	S	G	S	G	S	G	S
1	78	53			40	54	122	37
2	64	43			39	37	-	-
3	63	43	38	28	36	32	122	47
4	34	24	38	41			-	-
5			49	28			-	-
6			28	32			62	37
7	37	27	51	53			63	41
8	35	70			48	56	103	26
9	50	41	37	30	37	38	75	24
10	54	37	28	26			86	33

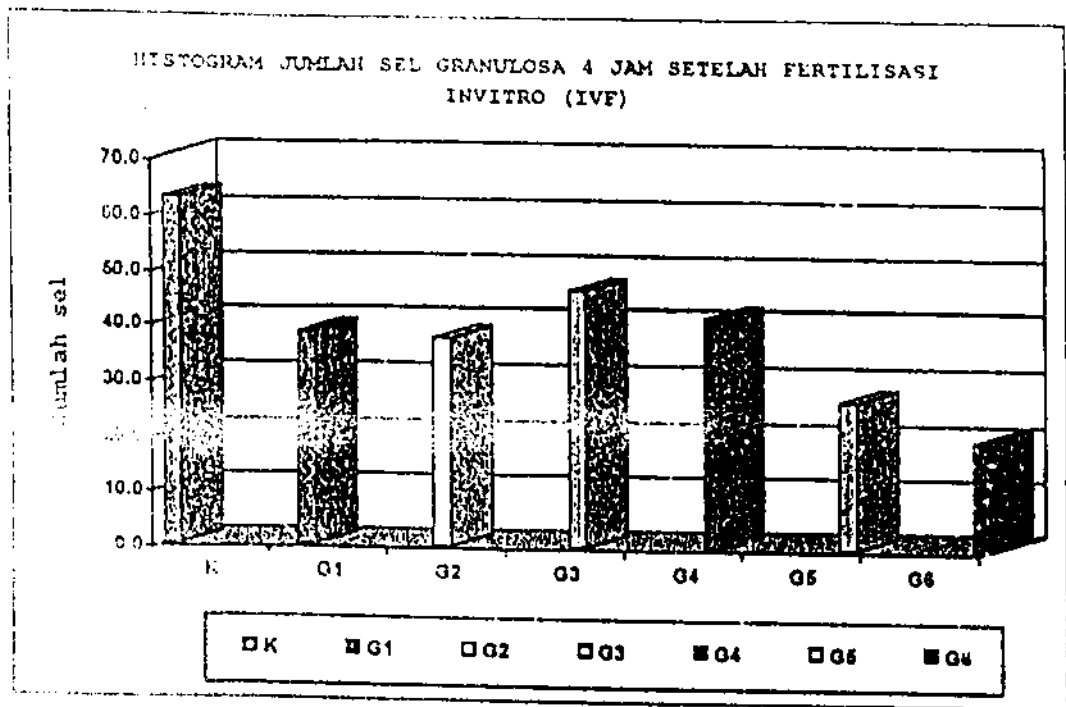
Tabel 3 Ringkasan Anava dari jumlah sel granulosa

Source	Sum of squares	Df	Mean squares	F Ratio	Prob
Between	11489,143	6	1914,857	1,991	0,0802
Within	60600,800	63	961,917		
Total	72089,943	69			

Tabel 4 : Ringkasan Anava dari jumlah sel spermatozoa

Source	Sum of squares	Df	Mean squares	F Ratio	Prob
Between	1447,543	6	245,257	0,532	0,7816
Within	29023,900	63	460,697		
Total	30495,443	69			

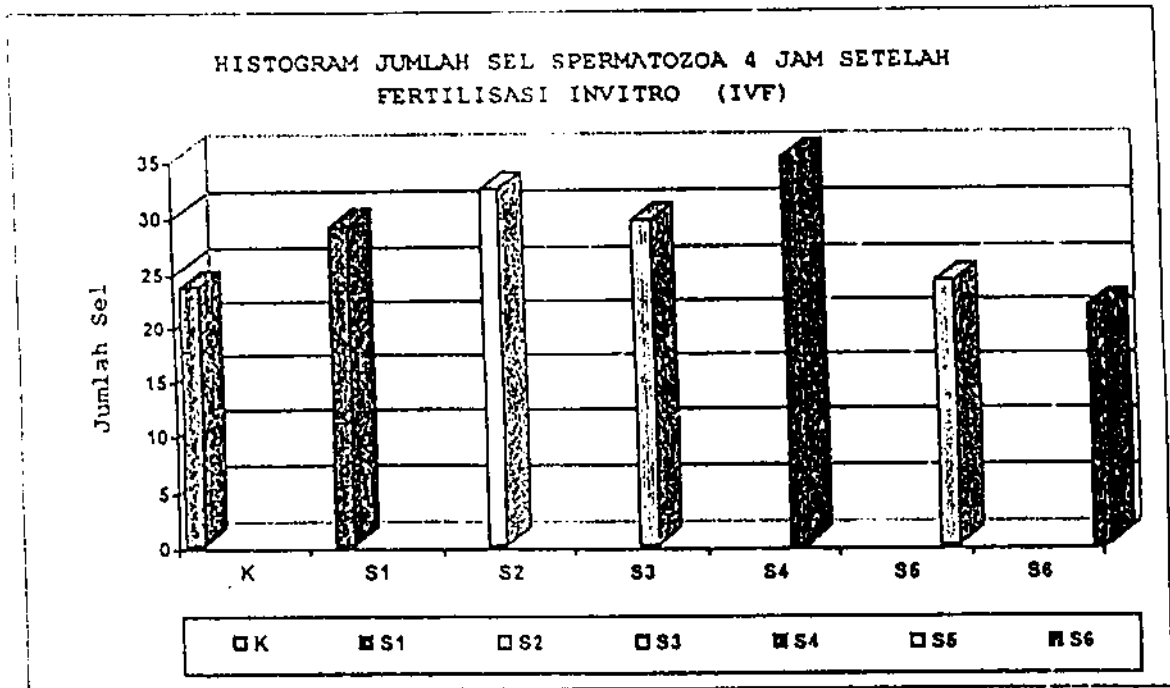
Gambar 2



Legenda:

- K : Kontrol
- G1 : ekstrak diklormetan dosis 1
- G2 : ekstrak diklormetan dosis 2
- G3 : ekstrak diklormetan dosis 3
- G4 : ekstrak metanol dosis 1
- G5 : ekstrak metanol dosis 2
- G6 : ekstrak metanol dosis 3

Gambar 3 :



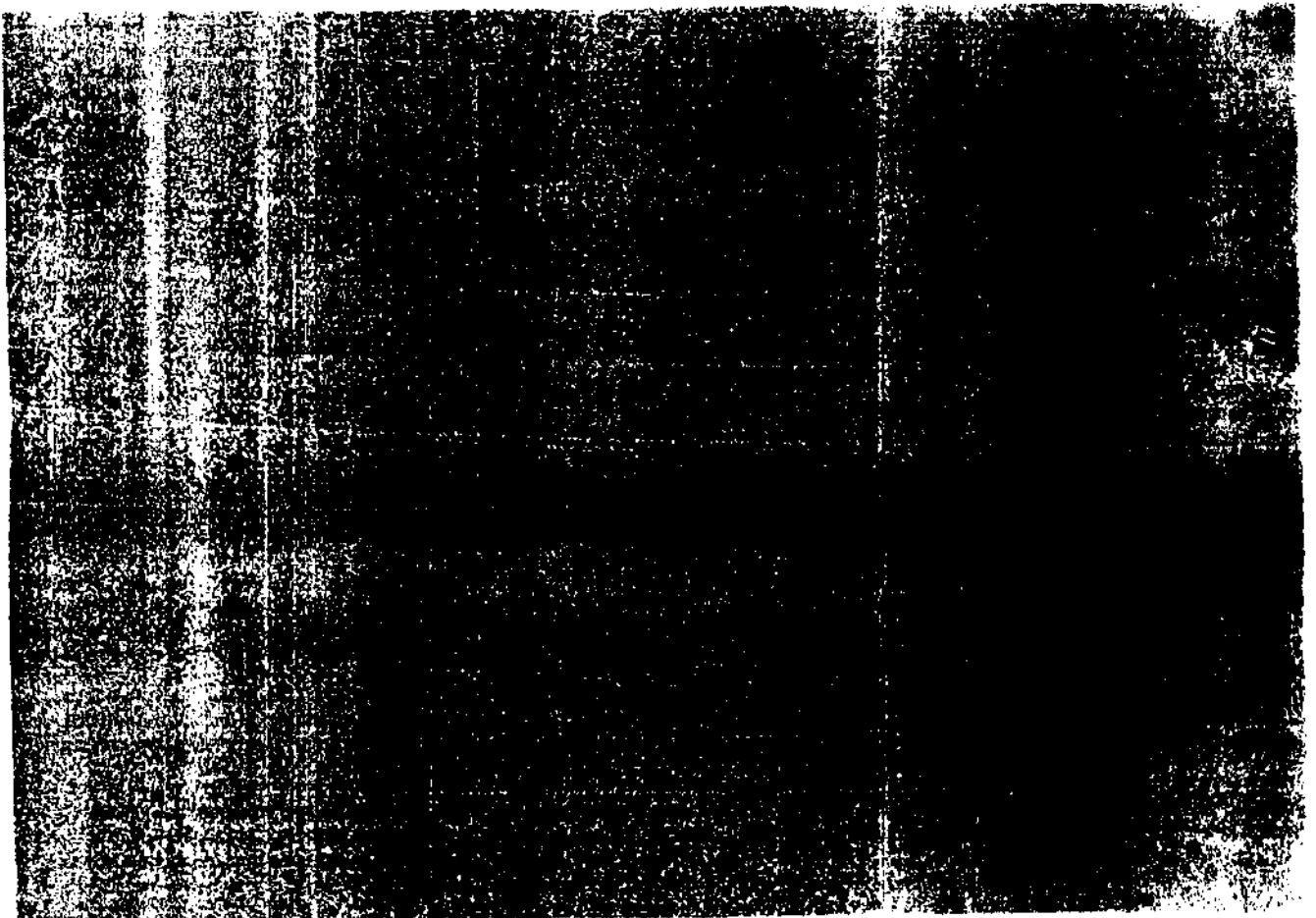
Keterangan :

- K : kontrol
- S1 : ekstrak diklormetan dosis 1
- S2 : ekstrak diklormetan dosis 2
- S3 : ekstrak diklormetan dosis 3
- S4 : ekstrak metanol dosis 1
- S5 : ekstrak metanol dosis 2
- S6 : ekstrak metanol dosis 3

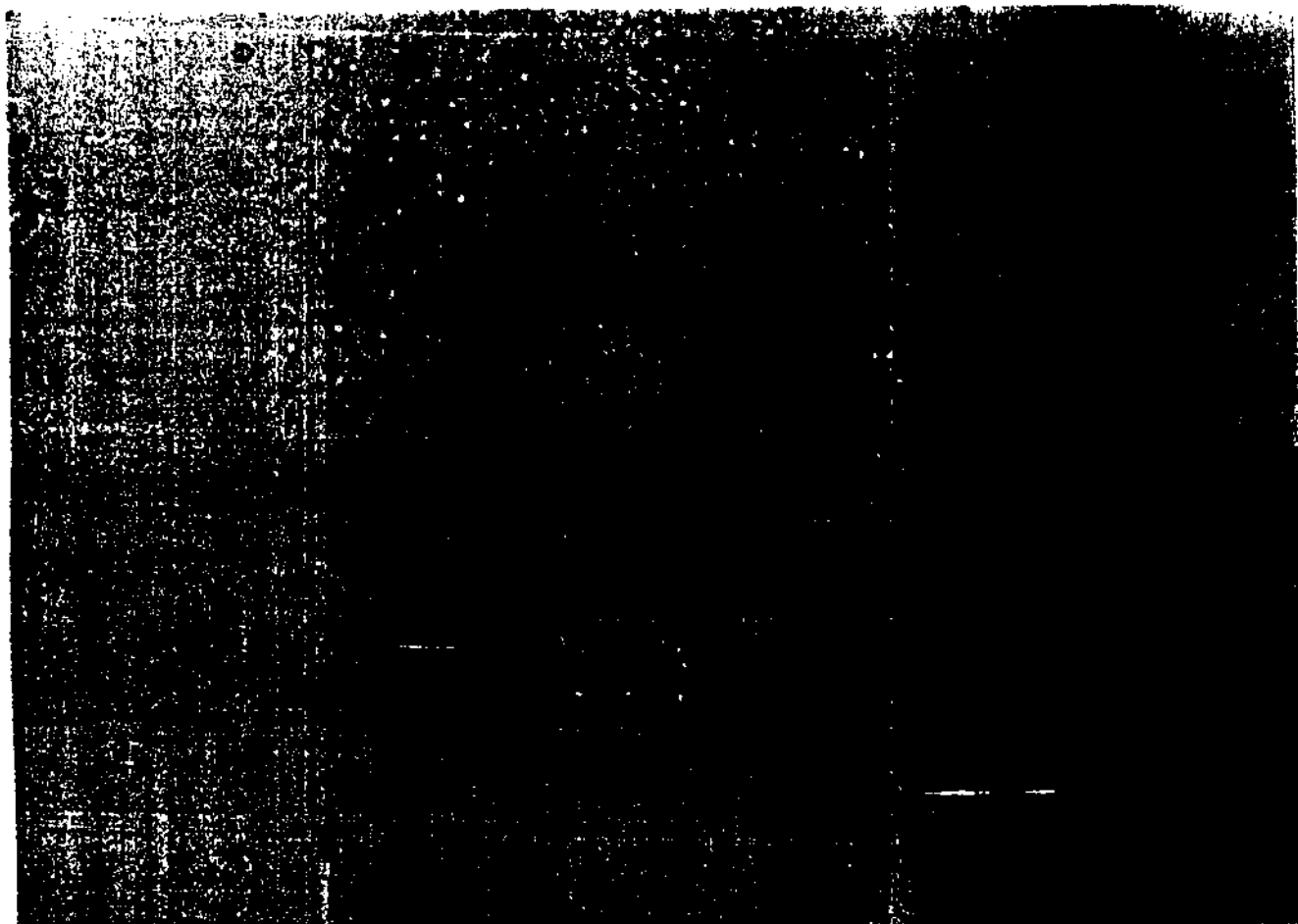
Tabel 5
DATA BERAT BADAN MENCIIT SELAMA PERLAKUAN (dalam Gram)

Kelompok	Nomor	Minggu						Keterangan
		I	II	III	IV	V	VI	
G1	1	32	32,5	32	31,5	31	30	
	2	40	41,5	41	40	38	32	
	3	31	32,5	32	31,5	30	-	
	4	36	40	40	40	39,5	39	
	5	32	32	31	31	30	-	
	6	34	35	35	35	34	35,5	
	7	32	31,5	32	32	31	32	
	8	31	34	34	33,5	-	-	
	9	39	39	40	40	41	42	
	10	35	33	33	33	-	-	
G2	1	35	37	37	37,5	35	36	
	2	40	42	42	42	36	36	
	3	31	31	30	30	31	31	
	4	30	30	31	32	31	31	
	5	29	30	31	32	30	30	
	6	41	41	38	35	34	33	
	7	34	34	35	35	-	-	
	8	24	-	-	-	-	-	
	9	36	35	35	35	36	36,5	
	10	42	40	39	37	-	-	
G3	1	30	30	29	29	28	28,5	
	2	33	33	27	25	31	30	
	3	36	38	37	37	30	39	
	4	37	38	37	37	37	-	
	5	35	35	35	36	37	35	
	6	43	43	42	42	43	43,5	
	7	35	34	34	33,5	33	33	
	8	34	35	35	35	33,5	-	
	9	33	35	37	37	38	38	
	10	34	30	29	29	30,5	32	
G4	1	35	35	35	35	35	36	
	2	32	32	32	33	33	34	
	3	35	34	34	34	35	34,5	
	4	41	37	36	35	37	38	
	5	38	40	40	40	43	-	
	6	38	38	37	37	37,5	-	
	7	34	33	33,5	33,5	34	35	
	8	33	33	34,5	34,5	34	38	
	9	40	39	40	41	40	37,5	
	10	35	36	38	38	39	39	
G5	1	39	39	38	39	36	38	
	2	29	-	-	-	39	40	
	3	36	35	35	35,5	35	-	
	4	33	32	34	34	40	39	
	5	35	35	36	36	35	34	
	6	29	30	33,5	33,5	37,5	32	
	7	36	35	38	38	29,5	32	
	8	34	34	35	35	36	36	
	9	37	37	38	39	-	-	
	10	33	33	34	34	29	-	
G6	1	37	38	40	40	37,5	32	
	2	32	33	33	33	29,5	32	
	3	35	36	36	36	36	36	
	4	30	-	-	-	-	-	
	5	26	29	27	27	29	-	
	6	35	35	34	-	-	-	
	7	37	35	32	31	-	-	
	8	29	30	31	33	33	33	
	9	30	30	32	31	31	31	
	10	28	29	28	28	33	-	
K	1	34	34	33	32	31	32	
	2	28,5	29	-	-	-	-	
	3	30,5	31	32	33	33	33	
	4	30	30	31	32	32	-	
	5	27	27	28	28	30	-	
	6	25	26	21	21	22	23	
	7	32	30	31	30	32	33	
	8	25	26	26	24	23	25	
	9	25	27	27	27	29	30	
	10	26	29	25	26	26	26	

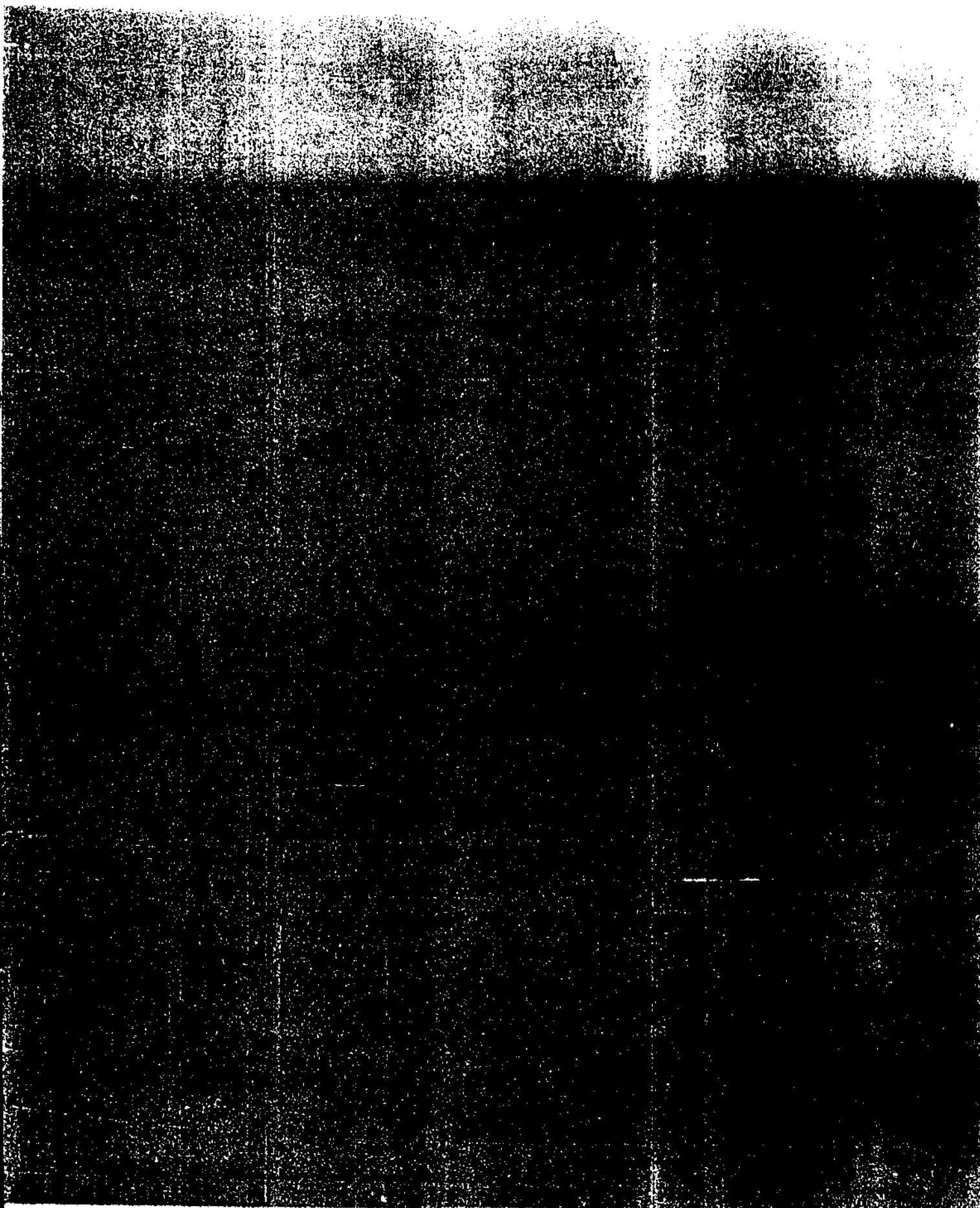
Keterangan : K : kontrol
 G1 : ekstrak diklormetan dosis 1
 G2 : ekstrak diklormetan dosis 2
 G3 : ekstrak diklormetan dosis 3
 G4 : ekstrak metanol dosis 1
 G5 : ekstrak metanol dosis 2
 G6 : ekstrak metanol dosis 3



Gambar 4. : Sel spermatozoa menciit



Gambar 5. : Sel telur menci



Gambar 6.: Mahap terbentuknya morula dari sel telur ternak isawi

5. Pembahasan

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan jumlah sel granulosa maupun sel spermatozoa tersebut hanya hanya 1 litera lebih kecil dari 1 tabel, sehingga jumlah sel granulosa dan sel spermatozoa tidak berbeda diantara kelompok perlakuan ($p > 0,05$) disamping itu semua mencit baik kontrol maupun perlakuan terjadi fertilisasi setelah 4 jam dilakukan fertilisasi *in vivo*. Hal ini mempunyai arti bahwa pemberian fraksi diklormetan dan metanol tidak menghambat bekerjanya enzim hialuronidase dalam melisiskan kumulus ooforus. Tetapi pada kultur hasil fertilisasi hanya dari kelompok kontrol yang dapat berkembang dengan terjadinya pembelahan sel sampai morula dan blastula. Terjadinya fertilisasi dapat terlihat dengan sudah terbentuknya ruang perivitelin, terbentuknya pronukleus jantan dan betina, adanya ekor dan kepala pada inti sel telur (Gilbert, 1988).

Dari penelitian ini belum dilakukan pengamatan apa yang terjadi selama 4 jam proses fertilisasi dan beberapa teori menyebutkan kejadian berikut :

0 detik	kontak sel telur-spermatozoa
sebelum 3 detik	bloking polispermi
sebelum 3 detik	test spermatozoa - sel telur
30 detik	peningkatan kadar kalsium
30 - 60 detik	bloking polispermi
1 menit	aktivasi NAD kinase
1 menit	peningkatan NADH dan NADPH
1 menit	peningkatan konsumsi O_2
1-2 menit	spermatozoa masuk

15-20 menit	: aktivasi sintesis protein
25-30 menit	: aktivasi sintesis RNA dan ribosom
30-40 menit	: aktivasi sintesis RNA ke dalam pusat sel telur
40-50 menit	: migrasi inti sel telur ke inti spermatozoa
5-10 menit	: aktivasi sintesis protein
15-20 menit	: aktivasi sintesis RNA dan ribosom
20-40 menit	: inisiasi sintesis DNA
60-80 menit	: mitosis
85-95 menit	: awal pembelahan (Gilbert, 1988).

Dengan tidak adanya pembelahan sel pada hasil fertilisasi menunjukkan bahwa pemberian traksi diklormetan dan metanol dapat menghambat proses mitosis yang tentunya terdapat gangguan pada awal-awal setelah terjadinya ikatan sel telur dan spermatozoa.

Pemberian gandarusa pada mencit jantan tidak mampu mencegah terjadinya fertilisasi. Hal ini terlihat pada hasil penelitian semua kelompok perlakuan terjadi fertilisasi dengan ditandai terbentuknya pronukleus jantan dan betina.

Pada tahap berikutnya semua perlakuan tidak mampu berkembang lebih lanjut hanya mencapai tahap satu sel (*zygote*) sedangkan pada kelompok kontrol semua berkembang mencapai tahap blastosis.

Hal ini adalah selama penelitian pemberian gandarusa menimbulkan akumulasi metabolit ke dalam darah hewan yang tentunya mengganggu proses spermatogenesis, kemudian akan dapat terjadi fertilisasi spermatozoa membawa metabolit tersebut yang

dan aktivitas genomik dari embrio selanjutnya mengawali tahap awal pembelahan awal.

Embrio pada fase ini telah siap untuk melakukan spermatogenesis mampu membuahi sel telur, tetapi pada tahap berikutnya embrio tidak bisa berkembang atau membelah. Karena perlu diingat pada tahap awal pembelahan sangat dipengaruhi oleh aktivitas genom embrio. Kemungkinan metabolit yang terkandung dalam gandarusa mempengaruhi aktivitas dan genom embrio.

Hal ini sejalan dengan pendapat Takahashi et al., 1992 adanya metabolit tertentu yang bersifat toksik akan dapat mengganggu proses metabolisme sehingga energi yang dihasilkan tidak cukup dipakai untuk proses pembelahan.

Menurut Peters et al. 1990, bahwa terganggunya proses metabolisme disebabkan terhambatnya proses glikolisis yang dikarenakan menurunnya aktivitas enzim fosfofruktokinase akibat tingginya perbandingan ATP : ADP pada awal pembelahan.

Menurut Gardner et al. 1988, bahwa kondisi ini berhubungan dengan sistem metabolisme pada menut yaitu pada tahap zygot memakai sistem metabolisme dasar piruvat dan setelah melewati tahap zygot terjadi perubahan sistem metabolisme yaitu menggunakan metabolisme dasar glukosa.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Pemberian fraksi diklorometan dan metanol per oral dengan dosis masing-masing 1,24 g/kg, 2,5 g/kg dan 3,75 g/kg setara serbuk kering daun *Justicia gendarussa* Burm.f. pada mencit jantan tidak dapat berfungsi sebagai inhibitor hialuronidase spermatozoa mencit.

2. Saran

Perlu dilakukan uji fertilisasi in vitro sekali lagi terhadap ekstrak total etanol pada serbuk daun *Justicia gendarussa* Burm.f. dan pengamatan yang lebih spesifik terhadap proses fertilisasi in vitro. Selain itu uji-toji toksisitas dan teratologi juga perlu dilakukan untuk mengetahui efek toksik terhadap perkembangan embrio.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 1996a. Biozyme - Hyaluronidase. Biozyme Product Information. <http://www.biozyme.com/biochemical/p38.html>.
- Anonymous, 1996b. TCART (Toronto Centre for Advanced for Reproductive Technology) Program Explanations. <http://www.hookup.net/~tcart-prgm.html#hya>
- Ani Hartati, Sutarjadi, Bambang Prajogo E.W. dan Onny P., 1997. Pengaruh pemberian per-oral ekstrak diklormetan dan ekstrak metanol daun *Gendarussa vulgaris* Nees terhadap spermatozoa epididimis mencit. *Symposium Penelitian Bahan Obat Alam IX*, Yogyakarta.
- Backer, CA. And Van Den Brink, RCB. 1965. *Flora of java* , Vol II, NVP.Noordhoff Groningen, Netherland,p.589-590
- Bambang Prajogo E.W. dan Suwijiyo Pramono, 1988 Isolasi glikosida flavonoid dari daun gondorusa (*Justicia gendarussa* Burm.f.), *Symposium Penelitian Tambahan Obat VI*, Jakarta.
- Bambang Prajogo E.W., Emmy K., Suhartono, Imam R., Noor I. And IGP Santa., 1994a. Bioactivity study on decoction and extracts of *Justicia gendarussa* Burm.f. *ASOMPS VIII. UNESCO*, Melaka, Malaysia.
- Bambang Prajogo E.W., Wahjo Dyatniko, Mulja H.S. dan Nicola Fuzzati, 1997b. Studi pendahuluan kandungan triterpenoida dalam *Justicia gendarussa* Burm.f. *Symposium Penelitian Bahan Obat Alam IX*, Yogyakarta
- Bambang Prajogo E.W., Khoiril A., IGP Santa dan Soeharno. 1997c. Pengaruh ekstrak diklormetan dan metanol daun *Gendarussa vulgaris* Nees. Terhadap spermatogenesis mencit. *Symposium Penelitian Bahan Obat Alam IX*, Yogyakarta
- Bambang Prajogo E.W., Widjiati, Hamdani dan Aucky H., 1997d. Hambatan hesperidin terhadap penetrasi spermatozoa mencit dalam proses fertilisasi *in vitro*. *Symposium Penelitian Bahan Obat Alam IX*, Yogyakarta
- Clermont, Y and Leblond, CP. 1952. Definition of the stage of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Annals of the New York Academy of the sciences*, 55(1) 518-573
- Didiet E., 1995. *Ukuran, Geometri dan Farmakologi daun gondorusa (Justicia gendarussa* Burm.f) dalam Penelitian beberapa tanaman obat di beberapa Petautan Ungar. Lucie W. dkk, Eds) Jilid VIII Departemen Kesehatan RI, 148

- Marawati, D., and W. A. Miller, D.P., 1983. The effect of flavonoid plant products on the motility of spermatozoa. *Journal of Natural Products*, 6: 103-110
- Gardner, H.W., and Leese, H.J. 1988. The role of glucose and pyruvate transport in regulating nutrient utilization by preimplantation mouse embryos. *Development* 104, p.423-429
- Gilbert, S.F.** 1988. *Developmental Biology*, 2nd ed. Sinauer Association, Inc-Publisher. Sunderland, Massachusetts, p. 313-330
- Gill, J.L.** 1978. *Design and Analysis of experiment in the Animal and medical sciences*. Vol.2. The Iowa State University Press. Page 5-6
- Griffit, L.A.** 1982. *Mamalian Metabolism of flavonoid*, in The flavonoid : advances in research (JB Harborne and TJ Mabry, Eds) Chapman and Hall, London New York page 681-715
- Hakamatsuka, T and Tanaka, N.** 1997. Screening for bioactive compounds targeting the cellular signal transduction pathway using an RT-PCR-Based bioassay system. *Biol.Pharm.Bull.* 20(4) 464-466
- Hamner , C.E.** 1970. *Semen*, in Reproduction and breeding techniques for laboratory animals. Lea & Febiger. Philadelphia Page 56-60
- Hendra S., Bambang Prajogo E.W., Aucky H. dan Sutarjadi.** 1990. Pengaruh ekstrak fase etilasetat dan fase n-butanol daun gendarusa (*Justicia gendarussa* Burm.f.) pada motilitas dan viabilitas spermatozoa manusia *in vitro*. *Kongres PANDI*, Surabaya
- Hegnauer, R.** 1973. *Chemotaxonomie der Pflanzen*. Band 6 Birkhauser verlag Basel und Stuttgart. p 611
- Heyne, K.** 1981. *Flavon-Glykoside*. Berlin - N.Y. : Druck NV Uitgeverij van Deyck, Dordrecht, Banding p.
- Kretser, DMB** 1970. Spermatogenesis and Sperm Maturation. *WHO symposium on advances in Fertilty and Sterility*, Moscow p. 72-83
- Li, MW., Yudin, A.I, Vande Voort, C.A., Sabour, K., Primakoff, P and Overstreet, JW.** 1997. Inhibition of monkey sperm hyaluronidase activity and heterologous cumulus penetration by flavonoid. *Biol Reprod*, Jun 56:6 p.1383-9
<http://biomednet.com/db/midline?>

- Lin Y., Mahan, K., Lathrop, W.F., Myles, D.G. and Primakoff, P.** 1994. A hyaluronidase activity of the sperm plasma membrane protein PH-20 enables sperm to penetrate the cumulus cell layer surrounding the egg. *Journal of Cell Biology*, 127, p. 1157-1163.
- Martin, DW** 1984. *Pengaturan ekspresi gen*, dalam buku *Biokimia "Harper's review of Biochemistry"* (terjemahan Adji D. dan Andreas SK). EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Moeso, S. dan Agus, P.** 1985. Laporan perjalanan ke Jayapura Sentani- (Irian Jaya). Fakultas Biologi UGM, Yogyakarta, p.19.
- Palmer, T.** 1987. *Understanding enzymes*, 4th Ed. Prentice Hall, Ellis Horwood, London New York Toronto Sydney Tokyo Singapore Madrid Mexico City Munich, page 277 - 305.
- Petters, R.N., Johnson, B.N., Reed, M.J. and Archilog, A.E.** 1990. Glucose, glutamine and anorganic phosphate in early development of the pig embryo in vitro. *J.Reprod and Fertil*
- Rehakova, M., Bakos, D., Soldan, M. and Vizarova, K.** 1994. Depolymerization reaction of hyaluronic acid in solution. *Int.J.Biol.Macromol.* Vol.16 No.3. p. 121-124
- Reny Wahyudi, Sutarjadi, Bambang Prajogo E.W. dan Aucky H.** 1997. Pengaruh ekstrak diklormetan dan metanol daun *Gendarussa vulgaris* Nees terhadap motilitas dan viabilitas spermatozoa manusia *in vitro*. *Symposium Penelitian Bahan Obat Alami IX*, Yogyakarta.
- Robinson, T.** 1983. *The organic constituents of higher plants*. Their chemistry and interrelationships. 5th Ed. Cordus Press, P.O. Box 587, North Amherst, MA 0105, Page 191 - 224.
- Salzman, M. and Schomburg, D.** 1990. *Enzyme Handbook*, Springer-Verlay Berlin Heidelberg New York. Number 4.2.2.1.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. And Maniatis, T.** 1989. *Molecular cloning, A laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. page. 1.33-1.37
- Siti, S.** 1995. Ekstat gandarusa sebagai obat tradisional. *Warta APINMAP Indonesia*, Tahun V, Vol.V, No.1, hal.8-9
- Smith, J.C. And Wilmut, I.** 1994. Control of cleavage and further development *in vitro* in a constituted zygote-cell non-cultured. *Journal of Reproduction and Fertility*, 100, p. 323-329

Sri Lestari, Sutarjadi, Aucky H. dan Bambang Prajogo E.W. 1997. Pengaruh ekstrak diklormetan dan metanol daun *Gendarussa vulgaris* Nees terhadap aktivitas enzim hialuronidase spermatozoa pada kumulus ooforus ovum manusia *in vitro*. *Symposium Penelitian Bahan Obat Alami IX*, Yogyakarta.

Steel, RGD and Torrie, JH. 1980. *Principle and procedures of statistics. A Biometrical Approach*. 2nd Ed. Mc Graw-Hill Book Company. page 234-235

Suhana. 1978. Kapasitas dan reaksi akrosom dalam hubungan dengan fertilisasi dan antifertilisasi, Prosiding simposium spermatologi. Surabaya, 19-21 Januari 1978.

1-1 SEP 2003

PAMERAN