

RINGKASAN

Berawal dari kajian fungsi spermatozoa yang meliputi kapasitas, migrasi, *binding* penetrasi dan fusi, ternyata rangkaian proses tersebut dapat dikembangkan mekanisme untuk usaha penurunan fertilitas pria. Pada proses *binding* penetrasi terdapat enzim-enzim hialuronidase, enzim penetrasi korona (CPE) dan akrosin yang sangat berperan dalam melancarkan proses fertilisasi. Bentuk manipulasi hambatan atau penurunan aktivitas hialuronidase misalnya merupakan salah satu mekanisme kontrasepsi masa depan yang sekaligus dapat menambah deretan mekanisme yang selama ini diunggulkan antara lain hormonal dan mekanis.

Berkaitan dengan usaha pencarian kontrasepsi pria dicoba untuk mencari sumber bahan alam yang berasal dari obat tradisional yang juga merupakan bagian kekayaan bangsa Indonesia yang masih belum banyak terungkap secara ilmiah. Berdasar etnomedisin tumbuhan *Justicia gendarussa* Burm.f. digunakan masyarakat pedalaman Papua untuk menjarangkan kelahiran bagi pria. Selanjutnya dari kajian kemotaksonomi diketahui tumbuhan ini mengandung komponen flavonoid dan secara farmakologi mempunyai aktivitas inhibitor hialuronidase.

Dari masalah yang ada timbul gagasan untuk meneliti bahan kontrasepsi pria *per oral* disamping merupakan lapangan penelitian yang terbuka lebar, juga masih diperlukan penelitian untuk menentukan kontrasepsi ideal.

Penelitian aktivitas antifertilitas flavonoid daun *Justicia gendarussa* Burm.f. yang juga merupakan penelitian eksperimental pencegahan penetrasi spermatozoa mencit dalam proses fertilisasi *in vitro* mempunyai tujuan untuk menetapkan struktur flavonoid

mayor dalam fraksi *n*-butanol daun *J.gendarussa* yang berperan dalam pencegahan penetrasi spermatozoa mencit pada proses fertilisasi *in vitro*, sebagai akibat penurunan aktivitas hialuronidase spermatozoa epididimis intraseluler. Sehubungan dengan kompleksnya permasalahan terutama penyediaan untuk uji *in vivo* dari komponen mayor memerlukan proses yang panjang disamping memerlukan peralatan yang tidak tersedia di sini, sehingga untuk uji antifertilitas bahan hanya sampai tingkat fraksi *n*-butanol. Meskipun demikian tetap menetapkan struktur komponen mayor serta uji *in vitro*nya. Rancangan penelitian ini digunakan metode pendekatan bahwa isolasi komponen aktif dipandu dengan bioaktivitas

Fraksi *n*-butanol daun *J.gendarussa* diperoleh dari hasil ekstraksi cara maserasi dan perkolasi dalam pelarut *n*-heksan, metanol, kloroform dan *n*-butanol secara berurutan. Selanjutnya dari fraksi *n*-butanol dilakukan uji aktivitas *in vitro* dan *in vivo* fraksi *n*-butanol pada mencit jantan dengan metoda fertilisasi *in vitro* (IVF) yang dirangkai dengan uji aktivitas *in vivo* terhadap aktivitas hialuronidase spermatozoa epididimis mencit. Pada tahap akhir dengan menguji aktivitas *in vitro* isolat komponen mayor dengan metoda IVF. Terhadap studi fitokimia dilakukan separasi, isolasi dan purifikasi komponen flavonoid dengan rincian analisis LC-MS, isolasi kolom terbuka silika, purifikasi dengan HPLC, isolasi dengan kolom terbuka diaion, purifikasi dengan MPLC dan analisis ^1H - ^{13}C NMR. Hasil yang diperoleh pada fraksi *n*-butanol pada LC-MS diketahui ada 12 komponen dengan berat molekul sama serta hanya dapat disolasi 2 komponen flavonoid mayor dan minor, namun berat yang diperoleh tidak cukup untuk analisis NMR. Tetapi dari ekstrak metanol juga didapat 2 komponen yang sama dan berlanjut untuk analisis ^1H - ^{13}C NMR, sehingga dapat diperoleh data struktur

elusidasi dari spektra proton, karbon, HMBC, HSQC dan COSY. Terhadap aktivitas biologi diperoleh hasil bahwa fraksi n-butanol *p.o* dosis 15 mg/20 g.bb dan 30 mg/20 g bb. mempunyai aktivitas antifertilitas mencit jantan pada metoda kawin alami. Aktivitas hambatan penetrasi spermatozoa mencit pada proses IVF juga ditunjukkan dari fraksi n-butanol baik *in vitro* maupun *in vitro*. Demikian pula terjadi penurunan aktivitas hialuronidase spermatozoa epididimis mencit, dengan hialuronidase yang tetap terdeteksi. Isolat murni komponen flavonoid mayor ada aktivitas *in vitro* terhadap uji IVF pada konsentrasi 100 ppm. Pada tahap akhir dengan menguji aktivitas *in vitro* isolat komponen mayor dengan metoda IVF.

Dari hasil penelitian dan analisis data terhadap semua variable pengujian yang telah dilakukan pada mencit (*Mus musculus*) jantan dapat disimpulkan bahwa :

1. Fraksi n-butanol mempunyai aktivitas antifertilitas mencit jantan *in vivo* dan ada hambatan penetrasi spermatozoa epididimis mencit pada proses fertilisasi *in vitro* (IVF).
2. Komponen major flavonoid adalah 6,8-di-C- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-flavone atau 6,8-di-C- α -L-arabinosilapigénine yang juga ditemukan pada *Mucuna sempervirens* Hemsl. dan pada uji *in vitro* dapat menghambat penetrasi spermatozoa epididimis mencit pada proses fertilisasi *in vitro* (IVF). Salah satu komponen minor adalah : 6-C- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-8-C- β -D-silopiranosilflavone atau 6-C- α -L-arabinosil-8-C- β -D-silosilapigénine. Dari hasil deteksi LC-MS dalam fraksi butanol diketahui terdapat 12 komponen flavonoid dengan berat molekul sama.

3. Enzim hialuronidase spermatozoa epididimis mencit perlakuan tetap terdeteksi dengan aktivitas yang menurun

This experimental study has been carried out to investigate antifertility effect of flavonoids of *Justicia gendarussa* Burm.f leaf on penetration inhibition of mouse sperm *in vitro* fertilization (IVF). The aim of this study was to determine major flavonoid compound structure of n-butanol fraction that influences the penetration inhibition by decreasing intracellular sperm hyaluronidase. Five steps of investigation were carried out: 1). Extraction and fractination with *n*-hexane, methanol, chloroform and n-butanol respectively; 2). *in vitro* and *in vivo* activity test of penetration inhibition by IVF method; 3). isolation, separation, purification and structure elucidation of the flavonoid compounds ; 4). *In vitro* activity test of major compound isolate by IVF methods; 5). *in vivo* sperm hyaluronidase activity test.

The results of this study showed that *in vitro* activity was 75 ppm and *in vivo* activity (per oral) was 15 and 30 mg/20 g BW. /days of n-butanol fraction on penetration inhibition by IVF methods, Hyaluronidase mouse epididymal sperm activity was decreased whith persistent synthesis of hyaluronidase. *n*-Butanol fraction consists of 12 flavonoid compounds with the same molecule weight by LC-MS. and only two were isolated. *In vitro*, effect of major compound was active in 100 ppm concentration by IVF methods.

Conclusion:

1. *n*-Butanol fraction of *Justicia gendarussa* (p.o.) had antifertility effect and sperm penetration inhibition of mice by IVF methods.
2. Major compounds is 6,8-di-C- α -L-arabinopyranosyl-4',5,7-trihydroxy-flavone or 6,8-di-C- α -L-arabinosylapigénine and it was active on *in vitro* test by IVF method. Minor compounds is 6-C- α -L-arabinopyranosyl-4',5,7-trihydroxy-8-C- β -D-xylopiranosylflavone or 6-C- α -L-arabinosyl-8-C- β -D-xylosylapigénine
3. Hyaluronidase sperm mouse activity was decreased

Keywords :

Justicia gendarussa Burm.f, antifertility, hyaluronidase sperm mouse, flavonoid, *in vitro* fertilization (IVF).