

SKRIPSI

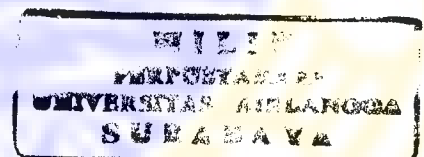
CHOIRUN NISA

HAMBATAN FRAKSI ETANOL 60% DAN FASA AIR *Justicia gendarussa* Burm.f. TERHADAP AKTIVITAS HIALURONIDASE SPERMATOZOA MANUSIA *IN VITRO*

17 10 05

05

h



FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
BAGIAN ILMU BAHAN ALAM
SURABAYA
2005

Lembar Pengesahan

**HAMBATAN FRAKSI ETANOL 60% DAN FASA AIR
Justicia gendarussa Burm.f. TERHADAP AKTIVITAS
HIALURONIDASE SPERMATOZOA MANUSIA
*IN VITRO***

SKRIPSI

Dibuat Untuk Memenuhi Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

2005

Oleh :

Choirun Nisa
NIM. 050112445

Skripsi ini telah disetujui
Tanggal 29 Juli 2005 oleh :

Pembimbing Utama


Dr. Bambang Prajogo E. W., Apt., MS.
NIP. 131 470 993

Pembimbing Serta I



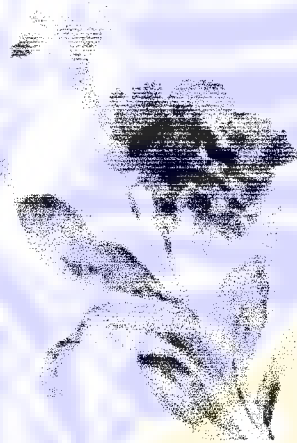
Prof. Dr. dr. Harianto Notopuro, MS.
NIP. 130 532 940

Pembimbing Serta II



Tri Agus Siswoyo, M. Agr., PhD
NIP. 132 207 406

**Ini bukan sebuah perhentian
Jalan masih lapang.....
Namun tak salah jika ku berhenti
sejenak
Tuk ucapkan syukur Alhamdulillah
Dan terima kasih pada Bapak dan
Ummi tercinta
Serta Kakak yang selalu berada
disisi...**



KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah saya panjatkan kehadiran ALLAH SWT atas segala rahmat dan hidayahNya sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi ini dengan judul “HAMBATAN FRAKSI ETANOL 60% DAN FASA AIR *Justicia gendarussa* Burm. f. TERHADAP AKTIVITAS HIALURONIDASE SPERMATOZOA MANUSIA *IN VITRO*”. Ucapan terima kasih yang tak terhingga saya sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini :

1. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, sebagai tempat saya menuntut ilmu yang sangat berarti dan berharga selama empat tahun ini.
2. Pusat Penelitian Biologi Molekular Jember, atas fasilitas yang telah diberikan kepada saya dalam penyelesaian penelitian ini.
3. Dr. Bambang Prajogo, E., W., MS, Apt selaku pembimbing utama dan pimpinan proyek gandarussa yang telah memberikan fasilitas penelitian, saran dan motivasi dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Prof. Dr. Hariyanto Notoputro dan Tri Agus Siswoyo, M.Agr., PhD selaku pembimbing atas bimbingan dan arahan yang sangat membangun.
5. dr. Hudi Winarso, Sp.And selaku penguji atas kritikan yang membangun dan sarannya.
6. Drs. Tutiek Purwanti, M.Si sebagai dosen wali yang telah membimbing selama saya menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Airlangga.
7. Ummi dan Bapakku tercinta, terima kasih atas doa-donya yang tak henti-henti.
8. Terima kasih kepada kedua Kakakku tercinta, Neng Nurul (thanx buat dana-dana yang selalu tersedia untuk pembuatan skripsi ini, ikhlas kan?) dan Cak Arif (Maaf ya aku dulu!Ayo kapan lulus?)

9. Terima kasih juga kepada My Team Work: Azmil, Pipit, dan Ita atas hari-hari yang penuh perjuangan di Jember. Akhirnya selesai juga ya! Unforgettable experiences guys!
10. Mbak Rini yang menjadi ketua dalam tim penelitian kami, maaf mbak sering merepotkan, semoga penelitian kita bermanfaat.
11. Karyawan Bagian Bahan Alam (Pak Parto, Pak Lismo, Pak Jarwo, Mas Iwan, Mas Mahfud) terima kasih telah memberi kemudahan dan fasilitas kepada saya selama melaksanakan penelitian ini.
12. Karyawan Ruang Baca Farmasi Lantai III (Pak Miskun, Ibu Sri Utami, Mbak Rere) terima kasih atas kemudahan dalam menggunakan fasilitas-fasilitas yang ada.
13. Terima kasih kepada Bu Yayuk dari Lab Andrologi RS dr. Soetomo atas bantuannya
14. Terima kasih yang tak terhingga kepada para volunteer atas kesediannya memberikan sampel untuk penelitian ini.
15. Thanx to sahabat-sahabatku yang selalu setia mengulurkan tangan dan memberi keceriaan selama 4 tahun yang panjang ini: Ayun (my girlfriend), Om Dudy_koe, Thomi (my old brother), Nawi (my jokerman) atas tawa-tawanya selama ini, Mami dan Pak cik terima kasih atas bagi-bagi ilmunya selama ini, My technician: idrus dan gigih makasih atas kesiagaannya dan terakhir buat sobat-sobat masa kecilku: tintis, ikka dan nova
16. Thanx juga pada teman – teman proyek gandarussa yang tidak bisa disebutkan satu persatu.
17. Teman – teman angkatan 2001, thank's a lot.

Saya menyadari begitu banyak kekurangan dalam penelitian ini, semoga skripsi ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan yang akan datang.

Surabaya, 31 Agustus 2005

Penyusun

RINGKASAN

HAMBATAN FRAKSI ETANOL 60% DAN FASA AIR *Justicia gendarussa* Burm.f. TERHADAP AKTIVITAS HIALURONIDASE SPERMATOZOA MANUSIA *IN VITRO*

Choirun Nisa

Hialuronidase mempunyai peranan penting dalam proses fertilisasi. Hialuronidase bekerja dengan menghidrolisis kumulus ooforus, Apabila daya kerja hialuronidase dihambat maka kemampuan hialuronidase untuk mendispersi kumulus ooforus menurun sehingga tidak terjadi penetrasi.

Dari hasil survei di Irian Jaya dilaporkan bahwa tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. dipergunakan masyarakat setempat untuk obat KB pria

Obat kontrasepsi harus bersifat reversibel sehingga jika pemberian obat dihentikan, fungsi penetrasi dapat kembali normal. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tipe hambatan dari fraksi etanol 60% dan fasa air dari *Justicia gendarussa* Burm.f terhadap asam hialuronat

Pada penelitian ini digunakan *crude* enzim hialuronidase hasil dari isolasi spermatozoa manusia. Sedangkan inhibitor yang digunakan adalah fraksi etanol 60% dan fasa air yang diekstraksi dari daun *Justicia gendarussa* Burm.f. dengan cara maserasi dan perkolasi dengan pelarut n-heksan, etanol 60% kemudian dilakukan pemisahan dengan pelarut kloroform dan air hingga didapat ekstrak fraksi etanol 60% dan fasa air. Untuk menentukan tipe hambatan hialuronidase oleh fraksi etanol 60% dan fasa air *Justicia gendarussa* Burm.f dilakukan penentuan aktivitas hialuronidase dengan metode kolorimetri Morgan-Elson.

Pada uji penentuan tipe hambatan Fraksi etanol dan fasa air *Justicia gendarussa* Burm.f. terlebih dahulu ditentukan konsentrasi inhibitor yang digunakan sehingga dilakukan pengukuran efek penghambatan aktivitas hialuronidase oleh inhibitor yaitu fraksi etanol 60% dalam beberapa konsentrasi yaitu 0; 3058,87; 15294,34; 61177,36 ppm. Diperoleh bahwa pada konsentrasi 15294,34 ppm terjadi penghambatan sebesar 50% sehingga konsentrasi ini digunakan untuk uji penentuan tipe hambatan

Pada uji penentuan tipe hambatan fraksi etanol 60% dan fasa air *Justicia gendarussa* Burm.f. digunakan lima konsentrasi substrat, yaitu 1,24; 2,49; 3,74; 4,99; 6,23 mM dan Inhibitor dengan konsentrasi 15294,34 ppm. Dari beberapa konsentrasi substrat tersebut diperoleh kurva beberapa waktu inkubasi (0; 2,5; 5; 10; 15; 20; 30; 40; 60 menit) Vs produk (GlcNAc). Dari kurva yang diperoleh kemudian ditentukan nilai V_0 sebesar $\tan \alpha$ (α = sudut kemiringan grafik).Kemudian dilakukan pemetaan kebalikan ganda data kecepatan enzim yaitu kebalikan ($1/V_0$) dari kecepatan reaksi V_0 dipetakan terhadap kebalikan konsentrasi substrat [S], yaitu $1/[S]$. Titik potong pada sumbu x ($y=0$) merupakan nilai dari $-1/K_m$ sedangkan titik potong pada sumbu y ($x=0$) merupakan nilai dari $1/V_0$ maks. Kemudian kurva yang diperoleh dari rangkaian percobaan tanpa adanya inhibitor dan dengan inhibitor dibandingkan.

Dari hasil penelitian diperoleh nilai K_M tanpa inhibitor adalah 1,890mM, K_M dengan inhibitor fraksi etanol adalah 2,43 mM dan K_M dengan inhibitor fasa air adalah 19,61 mM. V_o maks yang diperoleh 1,85-2,43 mM/menit

Dari kedua parameter yaitu K_M dan V_o maks menunjukkan bahwa tipe penghambatan fraksi etanol 60% dan fasa air *Justicia gendarussa* Burm.f bersifat mirip dengan tipe hambatan kompetitif reversibel

ABSTRACT

THE INHIBITION OF ETHANOL 60% FRACTION AND WATER PHASE OF *Justicia gendarussa* Burm.f ON THE ACTIVITY OF HUMAN SPERMATOZOA HYALURONIDASE *IN VITRO*

The purpose of this study is to find out the inhibition type of ethanol 60% fraction a water fase of *Justicia gendarussa* Burm.f. leaves to human spermatozoa hyaluronidase activity.

In this study hyaluronidase was treatment with ethanol fraction and water phase. The activity of hyaluronidase was determined using Morgan-Elson Method. In this method a reddish-purple-colored product can be detected, with spectrophotometer, instead of absorbance at 585. the acivity of enzyme was measuring by plotting the absorbance to standart curve. Michaelis-Menten equation can expresses the mathematical relationship between the initial rate of enzyme catalyzed reaction, the consentration of substrate, and certain characteristic of enzyme such as K_M an V_{maks} The value of K_M approximated from a series experiment in which the initial velocity reaction (V_0) is measured at different initial consentration of the substrate with a fixed consentration of enzyme.

By Lineweaver-Burk equation, $1/V_0$ is plotted against $1/[S]$, then a straight line is obtained. This line will have slope of $K_M/V_0 \max$, an intercept of $1/V_0 \max$ on the $1/V_0$ axis, and the intercept of $-1/K_M$ on the $1/[S]$ axis.

The result of this study showing that the inhibition type of ethanol 60% fraction and water phase of, *Justicia gendarussa* Burm.f. leaves to human spermatozoa hyaluronidase activity is reversible competitive. It mean that *Justicia gendarussa* Burm.f require to be male contraceptive drug.

Keywords : *Justicia gendarussa* Burm.f, fertilization, Morgan-Elson Methode, reversible competitive inhibition

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	iii
RINGKASAN	v
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Hipotesa Penelitian	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.4.1 Tujuan Umum	3
1.4.2 Tujuan Khusus	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan Tentang Tanaman <i>Justicia gendarussa</i> Burm. f.	4
2.1.1 Klasifikasi Tanaman	4
2.1.2 Nama Daerah	4
2.1.3 Penyebaran dan Tempat Tumbuh	5
2.1.4 Morfologi Tanaman	5
2.1.5 Kandungan Tanaman	5
2.1.6 Kegunaan Tanaman	6
2.2 Tinjauan Spermatozoa	7
2.3 Tinjauan Tentang Ovum	8
2.4 Tinjauan Fertilisasi	9
2.5 Tinjauan Tentang Enzim	10
2.6 Tinjauan Tentang Hialuronidase	11
2.7 Tinjauan Tentang Kecepatan Reaksi Enzim	13
2.7.1 Persamaan Michaelis-Menten	14

2.7.2 Alur Lineweaver Burk	15
2.8 Tinjauan Tentang Inhibitor Hialuronidase	16
2.8.1 Inhibisi Reversibel	16
2.8.2 Inhibisi Ireversibel	17
2.8.3 Inhibitor Hialuronidase	18
2.9 Tinjauan Tentang Aktivitas Enzim	18
2.10 Pengukuran Aktivitas Hialuronidase.	19
2.10.1 Metode Fisika Kimia	19
2.10.2 Metode Kimia	20
2.11 Tinjauan Tentang Metode Morgan-Elson	21
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	22
BAB IV METODE PENELITIAN	24
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	24
4.2 Bahan dan Alat Penelitian	24
4.3 Prosedur Penelitian	24
4.3.1 Preparasi Bahan Uji	24
4.3.2 Pembuatan Standar <i>N</i> -acetyl- <i>D</i> -glucosamine (GlcNAc)	25
4.3.3 Pengukuran Aktivitas Hialuronidase Metode Morgan – Elson	25
4.3.4 Penentuan Tipe Hambatan Fraksi Etanol 60% dan Fasa Air Gendarusa Terhadap Aktivitas Hialuronidase	26
4.4 Analisis Data	26
4.4.1 Pengukuran Aktivitas Hialuronidase	26
4.4.2 Penentuan Tipe Hambatan	27
BAB V HASIL PENELITIAN	28
5.1 Pembuatan Kurva Standart Glukosamin <i>N</i> -asetat	28
5.2 Hasil Pengukuran Efek Penghambatan Aktivitas hialuronidase	29
5.3. Penentuan Tipe Hambatan.	30
BAB VI PEMBAHASAN	32
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	35
DAFTAR PUSTAKA	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
II.1 Data kelas utama enzim	11
V.1 Data Pengukuran absorbansi glukosamin N-asetat	28
V.2 Pengukuran efek penghambatan aktivitas hialuronidase	29
V.3. Ringkasan nilai K_M dan V_o maks hialuronidase pada substrat GlcNAc antara fraksi etanol 60% dan fasa air	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 6,8-di- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-flavon atau 6,8-diarabino-silapigenin (Prajogo, 2002)	6
2.2 6- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-8- β -D-silopiranosilflavon atau 6-arabinosil-8-silosilapigenin (Prajogo, 2002)	6
2.3 Spermatozoa manusia	7
2.4 Ovum manusia	9
2.5 Pengaruh konsentrasi substrat pada kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim	14
2.6 Plot Lineweaver-Burk : suatu grafik dari $1/v$ versus $1/[S]$	16
2.7 Grafik Lineweaver-Burk (a) inhibisi kompetitif dan (b) nonkompetitif (Lehninger, 1982)	17
5.1 Kurva standart Glukosamin N-asetat	29
5.2 Pengaruh penambahan fraksi etanol 60% terhadap prosentasi penurunan aktivitas hialuronidase	30
5.3 Penentuan nilai K_M dan V_o maks hialuronidase pada subtrat GlcNAc dengan menggunakan kurva Lineweaver-Burk	31
5.4 Pengaruh penambahan fraksi etanol 60% terhadap nilai K_M dan V_o maks hialuronidase pada subtrat GlcNAc dengan menggunakan kurva Lineweaver-Burk	31
5.5 Pengaruh penambahan fasa air terhadap nilai K_M dan V_o maks hialuronidase pada subtrat GlcNAc dengan menggunakan kurva Lineweaver-Burk	32
5.6 Grafik perbandingan nilai K_M dan V_o maks hialuronidase pada subtrat GlcNAc antara penambahan fraksi etanol 60% dan fasa air dengan menggunakan kurva Lineweaver-Burk	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
1	Tahapan Ekstraksi daun <i>Justicia gendarussa</i> Burm.f.	38
2	Reaksi Morgan-Elson (Takahashi <i>et.al.</i> , 2003)	39
3	Hasil analisis spermatozoa <i>volunteer</i> A	40
4	Hasil analisis spermatozoa <i>volunteer</i> B	41
5	Hasil analisis spermatozoa <i>volunteer</i> C	42
6	Hasil analisis spermatozoa <i>volunteer</i> D	43
7	Hasil analisis spermatozoa <i>volunteer</i> E	44
8	Hasil analisis spermatozoa <i>volunteer</i> F	45
9	Hasil analisis spermatozoa <i>volunteer</i> G	46
10	Hasil analisis spermatozoa <i>volunteer</i> H	47
11	Hasil analisis spermatozoa <i>volunteer</i> I	48
12	Hasil analisis spermatozoa <i>volunteer</i> J	49

BAB I

PENDAHULUAN

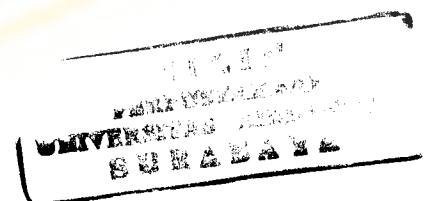
1.1 Latar Belakang Masalah

Saat ini yang lebih penting daripada masalah penanganan kemandulan adalah masalah pengendalian fertilitas perkawinan. Dalam usaha menekan kesuburan perkawinan dalam rangka membentuk keluarga kecil dan menghindari peledakan penduduk, maka berbagai cara kontrasepsi dipergunakan, baik metode untuk wanita maupun metode untuk pria. Dengan kemajuan dalam spermatologi diharapkan ditemukan dan dapat dipergunakan suatu macam 'pil lelaki' untuk kontrasepsi. Usaha ditekankan pada penemuan obat-obat anti spermatogenik yang dapat melenyapkan aktivitas spermatogenesis tanpa mempengaruhi libido, peristiwa ejakulasi dan tingkah laku seksual dan yang dianggap aman (Suhadi, 1979).

Spermatozoa terdiri atas kepala dan ekor. Dibagian luar, dua pertiga anterior kepala terdapat selubung tebal yang disebut *akrosom*. Selubung ini mengandung sejumlah enzim yang serupa dengan enzim yang ditemukan pada lisosom dari sel sel khusus, termasuk hialuronidase. Enzim ini memainkan peranan penting sehingga memungkinkan sperma untuk membuahi ovum (Guyton, 1997).

Enzim-enzim dalam akrosom diatas sifatnya individual, spesifik dan harus berurutan, jadi apabila hialuronidase telah bekerja menghidrolisis kumulus ooforus, maka enzim berikutnya akan disekresi. Sebaliknya apabila daya kerja enzim hialuronidase dihambat tentunya akan menurunkan kemampuan mendispersi kumulus ooforus yang pada akhirnya tidak terjadi penetrasi dan ini merupakan sifat kerja inhibitor enzim hialuronidase (Prajogo, 2002).

Seperti telah diketahui, bahwa pada sel telur terdapat 3 lapisan (layer). Dari luar kedalam, lapisan tersebut adalah lapisan kumulus ooforus, korono radiata dan zona peluzida. Proses fertilisasi tercapai jika spermatozoa dapat menembus 3 lapisan sel telur tersebut (Prajogo, 2002).



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.

Pada farmakologi kuno terdapat bahan-bahan yang berfungsi menghambat aktivitas hialuronidase. Secara tradisional bahan-bahan tersebut digunakan sebagai kontrasepsi, mengobati bekas gigitan ular, dan menyembuhkan luka. Bahan-bahan tersebut selanjutnya dibuktikan memiliki aktivitas anti-hialuronidase antara lain flavonoid, tannin, hidrangenol dari hidrangea, kurkumin, kumin, glycyrrhizin dari licorice dan tranilast. Beberapa bahan tersebut dan derivat sintetisnya selanjutnya digunakan sebagai kontrasepsi dengan kemampuannya untuk menghambat aktivitas hialuronidase sperma (Mio and Stern, 2001). Dari hasil survei di Irian Jaya dilaporkan pula bahwa tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. dipergunakan masyarakat setempat untuk obat KB pria (Prajogo, 2002).

Karena hialuronidase mempunyai peranan penting dalam proses fertilisasi, maka dilakukan penelitian yang terkait dengan pengaruh ekstrak gendarusa terhadap aktivitas dari hialuronidase. Aktivitas enzim dapat ditentukan dengan mengukur laju pembentukan suatu produk oleh enzim tersebut. dengan metode Morgan-Elson. Metode kolorimetri berdasarkan reaksi Morgan-Elson adalah yang paling praktis dan paling banyak digunakan. Metode ini juga yang paling terpercaya secara stoikiometri. Dari Pengukuran aktivitas hialuronidase setelah pemberian ekstrak gendarusa maka dapat diketahui daya hambat dan tipe hambat ekstrak gendarusa tersebut terhadap hialuronidase (Takahashi *et.al.*, 2003).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah kandungan ekstrak tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. (gendarusin) sebagai suatu senyawa flavonoid dapat menghambat aktivitas hialuronidase spermatozoa manusia?
2. Apakah tipe hambatan Kandungan ekstrak tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. (gendarusin) sebagai suatu senyawa flavonoid terhadap aktivitas hialuronidase spermatozoa manusia adalah kompetitif reversibel?

1.3 Hipotesa

1. Kandungan ekstrak tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. (gendarusin) sebagai suatu senyawa flavonoid dapat menghambat aktivitas hialuronidase spermatozoa manusia?
2. Tipe hambatan Kandungan ekstrak tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. (gendarusin) sebagai suatu senyawa flavonoid terhadap aktivitas hialuronidase spermatozoa manusia adalah kompetitif reversibel?

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Mengetahui manfaat kandungan ekstrak tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. (gendarusin) sebagai obat kontrasepsi bagi pria.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Melakukan uji aktivitas ekstrak tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. (gendarusin) sebagai obat kontrasepsi bagi pria dengan menggunakan metode Morgan-Elson.
- 2 Mengetahui Tipe hambatan ekstrak tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. (gendarusin) terhadap aktivitas enzim hialuronidase spermatozoa manusia.

1.5 Manfaat Penelitian.

Meningkatkan sumber daya tanaman obat berkhasiat, termasuk tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. sebagai obat kontrasepsi untuk pria, dengan menghambat aktivitas enzim hialuronidase yang berperan dalam proses fertilisasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f.

2.1.1 Klasifikasi tanaman (Backer, 1963)

Divisi	: Spermatophyta
Anak divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Anak kelas	: Sympetalae
Bangsa	: Scrophulariales
Suku	: Acanthaceae
Marga	: <i>Gendarussa</i>
Jenis	: <i>Gendarussa vulgaris</i> Nees. Syn. <i>Justicia gendarussa</i> Burm. f.

2.1.2 Nama Daerah

Justicia gendarussa Burm.f. mempunyai nama daerah antara lain :

Sumatera / Aceh	: besi – besi
Melayu	: gandarusa
Sunda	: handarusa
Jawa	: gandarusa, tetesan, trus
Madura	: ghandharusa
Bima	: gandarisa
Maluku / Ternate	: puli

(Anonim,2004)

2.1.3 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 (Prajogo, 1997).

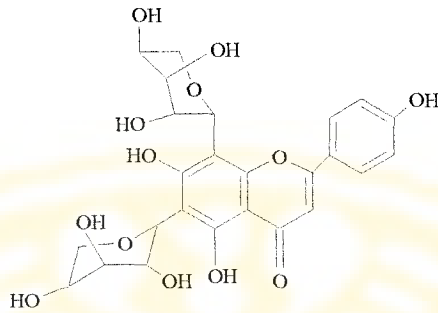
2.1.4 Morfologi tanaman

Justicia gendarussa Burm.f. merupakan tanaman setengah perdu tegak, sering bercabang banyak, tinggi 0,7 – 1,8 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, beringgit lebar dan tidak dalam. Bunga terkumpul 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 baji hingga bulat telur terbalik dengan tiga taju membulat pendek, putih, pada pangkal ungu, berbintik, dan dengan lipatan miring. Bibir atas segitiga, runcing, putih, berbintik ungu. Tangkai putik gundul 6 – 10 mm. Buah bentuk gada, gundul (Steenis, 1978).

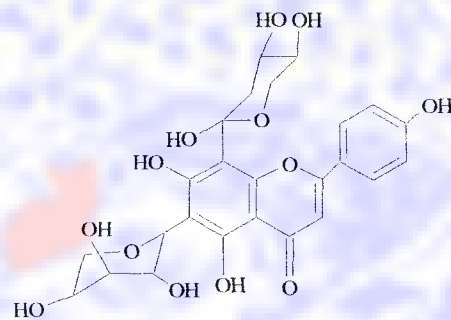
2.1.5 Kandungan tanaman

Kandungan kimia yang terdapat pada tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. ini antara lain steroid, triterpen, flavonoid, iridoid kumarin, dan kalium. Selain itu juga mengandung justicin, minyak atsiri, dan alkaloid yang agak beracun. (Prajogo, 1997 ; Anonim,2004)

Tanaman *Justicia gendarussa* Burm F mengandung zat kimia kalium, flavonoid (6,8 – diarabinosilapigenin dan 6 – arabinosil – 8 – silosilapigenin), (Prajogo, 2002); steroid, triterpen, tannin 0,4% (Anonim, 1995).



Gambar 2.1 6,8-di- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-flavon atau 6,8-diarabino-silapigenin (Prajogo, 2002)



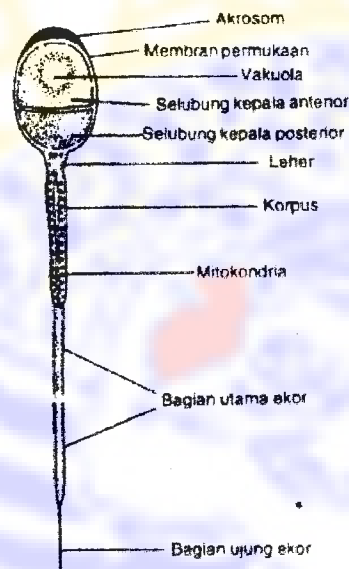
Gambar 2.2 6- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-8- β -D-silopiranosilflavon atau 6-arabinosil-8-silosilapigenin (Prajogo, 2002)

2.1.6 Kegunaan Tanaman

Bagian tanaman yang dipakai adalah daun, segar atau kering. Tanaman ini dimanfaatkan untuk pengobatan seperti luka terpukul (memar), tulang patah fracture, reumatik persendian, bisul, koreng. Untuk pemakaiannya pada tulang patah, bisul : yang segar dilumatkan atau yang kering dihaluskan, diaduk dengan arak, cuka secukupnya, untuk kompres tulang yang patah sudah dalam posisi yang benar dan terfiksasi. Memar, keseleo, reumatik : 15 – 30 g kering atau 30 –60 g gandarusa segar direbus, minum airnya. Memar : daun gandarusa diolesi minyak, layukan di atas api. Tempelkan ke tempat sakit. Di India dan Asia Tenggara, dipakai sebagai penurun panas, merangsang muntah, anti reumatik, pengobatan kelumpuhan otot wajah, eczema, sakit mata dan telinga. Untuk wanita hamil dilarang memakai tanaman ini (Anonim, 2004).

2.2 Tinjauan Tentang Spermatozoa

Spermatozoa jauh lebih kecil dari ovum (sel telur) dengan susunan yang disesuaikan dengan motilitasnya yang tinggi. Ia merupakan sel berflagela., terdiri atas kepala (dibagian anterior), badan (*middle piece*) dan ekor.



Gambar 2.3 Spermatozoa manusia

2.2.1 Kepala Spermatozoa

Kepala Spermatozoa berbentuk lonjong atau piriform pada manusia, agak gepeng pada ujungnya. Bagian kepala ini terdiri atas inti padat yang dibungkus selaput inti bilaminar jelas, dan topi akrosom bilaminar pula, yang menutupi dua pertiga inti bagian anterior. Ia berasal dari aparat Golgi pada spermatid. Inti dan topi akrosom dibungkus oleh membrane plasma tanpa sitoplasma. Inti terdiri atas 40% DNA (berat kering) dan protein yang banyak mengandung arginin. Diantara bagian kepala dan badan terdapat bagian yang menyempit, disebut bagian leher. Bentuk kepala spermatozoa bervariasi tergantung pada spesies. Pada sapi, domba, babi dan kelinci kepala spermatozoa berbentuk bulat pipih; pada manusia berbentuk bulat; pada unggas berbentuk silinder memanjang; pada mencit dan tikus, ujung kepala berbentuk kait.

2.2.2 Badan Spermatozoa

Badan spermatozoa berupa silinder. Bagian ini terdiri atas fibril aksial dikelilingi selubung mitokondria, dengan mitokondria yang tersusun terpilin. Mitokondria tersebut dibungkus sitoplasma dan membran plasma. Pilinan mitokondria membentuk sepuluh sampai empat belas kelokan.

2.2.3 Ekor Spermatozoa

Bagian spermatozoa ini dapat bergerak dan membentuk bagian terbesar spermatozoa

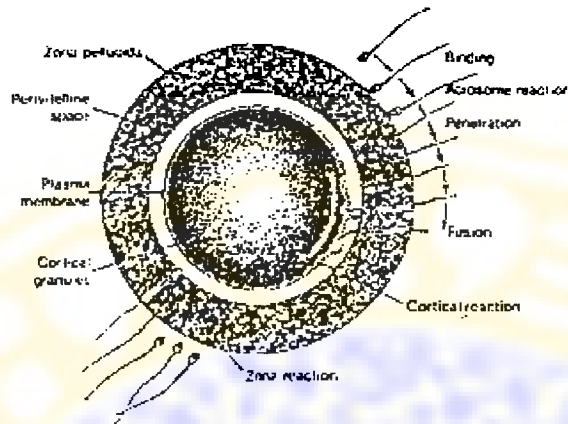
Spermatozoa mengandung komponen-komponen kimia penting, baik yang terdapat pada permukaan sel, maupun yang didalam sel (Suhadi, 1979)

Akrosom mempunyai peranan yang sangat penting, karena mengandung enzim yang penting untuk proses fertilisasi. Diakrosom inilah terdapat enzim hialuronidase yang berfungsi untuk penetrasi kumulus ooforus, enzim penetrasi korona yang berfungsi untuk penetrasi korona radiata dan akrosin yang berfungsi untuk penetrasi pada zona pelusida sehingga proses fertilisasi dapat terjadi.

2.3 Tinjauan Tentang Ovum

Permukaan ovum pada umumnya dilapisi oleh lapisan non seluler yang merupakan penghalang (barier), misalnya mantel lender (jeli), membran vitelina dan sering juga didapatkan barier tambahan yang tersusun oleh sel-sel folikel yang membungkus ovum mamalia

Pada waktu siap difertilisasi ovum manusia diselimuti oleh tiga lapisan dari luar kedalam adalah kumulus ooforus, korona radiata dan zona pelusida. Dua lapisan pertama terdiri dari sel-sel yang terdapat dalam matrix glikoprotein, sedangkan lapisan yang ketiga merupakan lapisan non seluler dan terdiri dari mukopolisakarida dan mukoprotein. Ovumnya sendiri dilapisi oleh membran vitelina. Antara membran vitelina dan zona pelusida terdapat ruangan yang dinamakan ruangan perivitelina (Kusmarini, 1997).



Gambar 2.4 Ovum manusia

2.4 Tinjauan Tentang Fertilisasi

Walaupun spermatozoa dikatakan menjadi “matang” saat spermatozoa meninggalkan epididimis, aktivitas spermatozoa diatur oleh berbagai faktor penghambat yang disekresikan oleh epitel-epitel duktus genitalia. Oleh karena itu, saat spermatozoa pertama kali dikeluarkan di dalam semen, spermatozoa tidak dapat melaksanakan fungsinya dalam membuahi ovum. Akan tetapi, sewaktu berhubungan dengan cairan dari traktus genitalia wanita, terjadi berbagai perubahan yang mengaktifkan sperma untuk proses akhir fertilisasi. Kumpulan perubahan ini disebut kapasitasi dari spermatozoa. Kapasitasi ini biasanya membutuhkan waktu 1 sampai 10 jam.

Saat ovum dikeluarkan dari folikel ovarium kedalam rongga abdomen dan tuba fallopi, ovum membawa bersamanya banyak lapisan sel sel granulose. Sebelum satu dapat sperma membuahi ovum, sperma melewati lapisan sel granulose, dan kemudian melakukan penetrasi menembus penutup tebal dari ovum sendiri yaitu zona pelusida. Selama kapasitasi sperma, membran anterior dari akrosom bersatu dengan membran sel pada bagian kepala sperma. Keadaan ini akan menimbulkan pelepasan awal sejumlah kecil enzim-enzim akrosom. Diyakini bahwa hialuronidase diantara enzim enzim ini terutama penting dalam membuka jalan diantara sel granulosa sehingga sperma dapat mencapai ovum yaitu dengan cara hialuronidase mendepolimerisasikan polimer-polimer asam

hialuronat didalam semen interseuler yang menahan sel sel granulose bersama sama.

Saat mencapai zona pelusida ovum, membran anterior sperma berikatan secara khusus dengan satu protein reseptor dam zona pelusida. Kemudian dengan cepat, seluruh membran anterior akrosom menghilang dan semua enzim akrosom dengan segera dilepaskan. Dalam waktu beberapa menit, enzim-enzim tersebut akan membuka suatu jalur penetrasi untuk masuknya kepala sperma melewati zona pelusida. Pertama kepala memasuki ruang perivitelina yang terletak dibawah zona pelusida tetapi diluar dari membran tempat oosit. Dalam waktu 30 menit, membran kepala sperma dan oosit bersatu, dan bahan bahan genetik dari sperma masuk kedalam oosit untuk menyebabkan fertilisasi (Guyton, 1997).

2.5 Tinjaun Tentang Enzim

Enzim pada hakikatnya merupakan katalis efektif, yan bertanggung jawab bagi terjadinya reaksi kimia terkoordinasi yang terlibat dalam proses biologi dari sistem kehidupan. Suatu enzim mempercepat kecepatan reaksi dengan menurunkan energi aktivasi yang diperlukan untuk terjadinya reaksi. Sebagai suatu katalis, suatu enzim tidak dirusak dalam suatu reaksi dan karena itu tetap tidak berubah dan dapat digunakan kembali. Suatu ciri yang menonjol dari enzim sebagai katalis adalah *spesifitas substrat*, yang menentukan fungsi biologinya. Ciri biologi kritis lain dari reaksi enzim adalah bahwa substrat dan spesifitas katalitiknya menjamin sintesis hanya dari produk biomolekular spesifik tanpa produksi serentak dari produk samping (Armstrong, 1995).

Beberapa enzim dirujuk sebagai protein sederhana karena hanya memerlukan struktur protein untuk aktivitas kataliknya. Enzim lain merupakan protein terkonjugasi karena masing masing memerlukan suatu komponen non protein, disebut kofaktor, untuk aktivitasnya

Pada tahun 1960-an, *International Union of Biochemistry* (IUB) mendirikan *Commision on Enzyme Nomenclature* untuk menyetujui suatu klasifikasi dan nomenklatur spesifik untuk jumlah enzim yang semakin banyak diidentifikasi dan dilaporkan. Komisi ini mengidentifikasi enzim menurut jenis reaksi yang dikatalisis, menentukan enam kelas utama antara lain : (Armstrong, 1995)

Tabel II.1 Enam kelas utama dari enzim

No.	Enzim	Fungsi katalitik
1.	Oksidoreduktase	Reaksi oksidasi-reduksi
2.	Transferase	Reaksi transfer gugusan
3.	Hidrolase	Reaksi hidrolitik
4.	Liase	Reaksi yang melibatkan eliminasi dari suatu gugusan melalui pembelahan suatu ikatan (Meninggalkan suatu ikatan ganda) atau penambahan suatu gugusan pada suatu ikatan ganda
5.	Isomerase	Reaksi yang melibatkan isomerisasi
6.	Ligase	Reaksi yang menggabungkan bersama dua molekul yang dirangkai dengan hidrolisis dan ikatan pirofosfat berenergi tinggi

2.6 Tinjauan Tentang Hialuronidase

Hialuronidase termasuk dalam golongan liase, pada subgolongan hidrolase. Enzim ini mempunyai tatanama sebagai berikut : (Kusumarini, 1997)

Nama sistematik : Hyaluronate lyase
 Nama yang diakui : Hyaluronate lyase
 Nama sinonim : Hialuronidase
 Lyase, hyaluronat
 Glukuronoglykosaminoglikan lyase
 Lyase, glukuronoglykosaminoglikan
 Spreading faktor
 Musinase

Hialuronidase merupakan endoglikosidase yang terdispersi meluas dan berfungsi untuk memotong ikatan heksosamin. Hialuronidase bekerja pada asam hialuronat dan kondroitin sulfat. Aktif pada range pH 6-9 dan pada suhu 37°C. Dari asam hialuronat, hialuronidase menghasilkan suatu tetrasakarida dengan

struktur (GlcUA- β -1,3-GlcNAc- β -1,4)₂. Selanjutnya tetrasakarida tersebut dipecah oleh glukuronidase dan β -N-Asetil heksosaminidase (Kusumarini, 1997).

Karena hialuronidase berperan penting dalam proses fertilisasi, beberapa penyelidik mnyetujui kemungkinan penggunaan inhibitor hialuronidase sebagai bahan kontrasepsi. Selama tahun 1950-an flavonoid seperti hesperidin terfosforilase (*phosphorilated hesperidin*) telah dievaluasi dengan hasil yang pasti. Bahan – bahan seperti hesperidin terfosforilasi, PS53 (sebuah polimer formaldehid dan asam sulfonat hidroquinon / *hydroquinone sulphonic acid*), tetradesilsodium sulfat, dan sodium aurothiomalat (myocrisin) merupakan inhibitor hialuronidase in vitro dan memiliki aktivitas antifertilitas ketika diberikan secara intravaginal (Demeester and Vercruysse, 1997).

Berdasarkan mekanisme kerjanya terhadap hyaluronan, hialuronidase dibagi menjadi 3 kelas utama:

a) Hyaluronoglukosaminidase

(Hyaluronat 4-Glukanohidrolase, E.C.3.2.1.35)

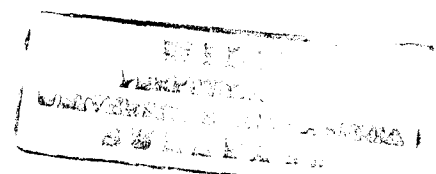
Tipe hyaluronodase ini menghidrolisis secara acak ikatan 1-4 antara N-asetil β -D-glukosamin dan residu D-glukoronat di hyaluronan. Enzim ini dibagi lagi berdasarkan sumbernya :

- Hyaluronidase testis

Enzim ini ditemukan pada jaringan testis pada sebagian besar mamalia dan berada pada selubung akrosom di spermatozoa. Hyaluronidase testis mendegradasi hyaluronan, kondroitin, kondroitin-4, dan 6-sulfat menjadi oligosakarida misalnya tetrasakarida. Hyaluronidase testis ini mempunyai rentang pH aktivitas yang luas.

- Hyaluronidase lisosom atau jaringan.

Enzim hyaluronidase ditemukan pula pada fraksi lisosom pada jaringan.. Hyaluronidase memiliki pH optimum yang asam dan rentang pH aktivitas yang sempit. Perbedaan profil pH aktivitas inilah yang digunakan untuk membedakan antara hyaluronidase testis dan hyaluronidase lisosom.



- Hyaluronidase bisa

Enzim ini didapati pada bisa ular, ikan batu (*Synanceja horrida*), kalajengking dan lebah.

b) Hyaluronoglukuronidase

(Hyaluronat 3-glikanohodrolase, E.C.3.2.1.36)

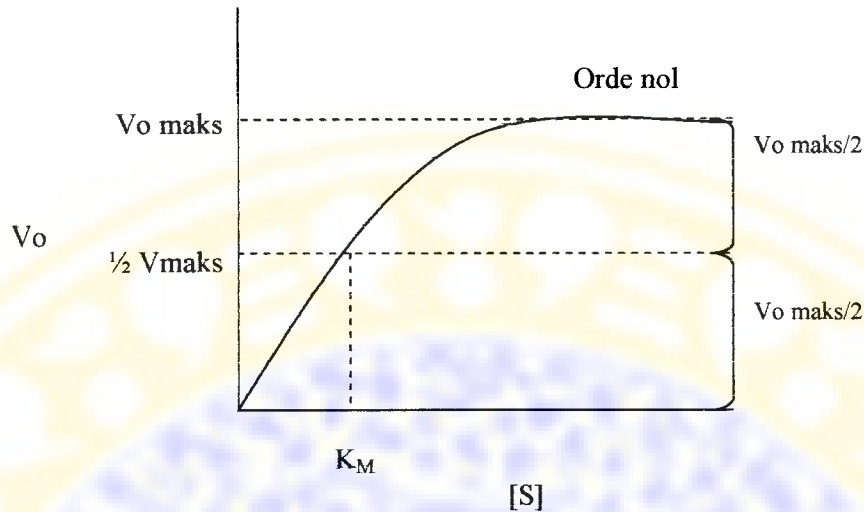
Hyaluronoglukuronidase menghidrolisis ikatan 1,3 antara β -glukuronat dan residu N-asetil glukosamin di hyaluronan. Tipe hyaluronidase ini dapat diekstraksi dari kepala dari Leech.

c) Hyaluronat liase (E.C.4.2.2.1)

Enzim ini umumnya ditemukan pada bakteri seperti Pneumococci, staphylococci, streptococci, clostridia, *Flavobacterium*, *Proteus vulgaris*.(Lauwers and Scharpe, 1997).

2.7 Tinjauan Tentang Kecepatan Reaksi Enzim

Jika konsentrasi substrat yang semakin meningkat digunakan dalam suatu seri uji, maka suatu plot dari V_0 (kecepatan, atau kecepatan reaksi) vs. konsentrasi substrat seringkali menghasilkan suatu kurva hiperbolik. Plot ini memperlihatkan bahwa kecepatan meningkat dengan konsentrasi substrat $[S]$ sehingga asimtomatik dicapai maksimum V_0 (V_0 maks), dimana setelah ini konsentrasi yang lebih besar dari substrat tidak meningkatkan kecepatan reaksi secara bermakna. Pada daerah kurva yang lebih rendah, reaksi mendekati kinetika tingkat pertama, yang berarti bahwa V_0 merupakan fungsi langsung dari konsentrasi substrat karena tempat aktif dari molekul enzim tidak dijenuhkan. Pada bagian atas dari plot, reaksi mendekati kinetika tingkat nol karena tempat aktif dari semua molekul enzim menjadi jenuh dan dengan demikian kecepatan reaksi tidak tergantung pada peningkatan lebih lanjut dari konsentrasi substrat.

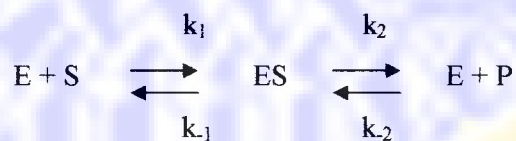


Gambar 2.5 Pengaruh konsentrasi substrat pada kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim

Uji enzim rutin dirancang untuk mengikuti kinetika tingkat nol untuk menghindari pengaruh konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi. Konsentrasi substrat yang diperlukan untuk kecepatan paruh maksimum ($1/2 V_o \text{ maks}$) disebut *konstanta Michaelis* (nilai K_M) dan dinyatakan dalam unit konsentrasi substrat (mol per liter atau M). K_M dapat dipertimbangkan sebagai suatu perkiraan ukuran afinitas suatu enzim terhadap substratnya, semakin rendah K_M semakin tinggi afinitas (Armstrong, 1995).

2.7.1 Persamaan Michaelis-Menten

Pada tahun 1913 Leonor Michaelis dan Maud L. Menten mengajukan suatu teori umum mengenai aksi dan kinetika enzim. Teori ini menjelaskan perjalanan dari reaksi enzimatik sebagai berikut :



Enzim E pertama kali bereaksi dengan substrat S membentuk suatu kompleks Enzim-Substrat ES, yang pada langkah kedua, menghasilkan enzim dan produk P. kedua reaksi dianggap reversibel dan empat kecepatan elementer disebut sebagai k_1 , k_2 , k_{-1} , dan k_{-2} (Armstrong, 1995).

Konsentrasi substrat yang menghasilkan separuh dari kecepatan maksimal (V_o maks) yang dinamakan nilai K_M (Konstanta Michaelis), dapat ditentukan secara eksperimental dengan membuat grafik V (kecepatan reaksi) untuk menunjukkan konsentrasi substrat $[S]$.

Persamaan Michaelis-Menten dinyatakan sebagai berikut :

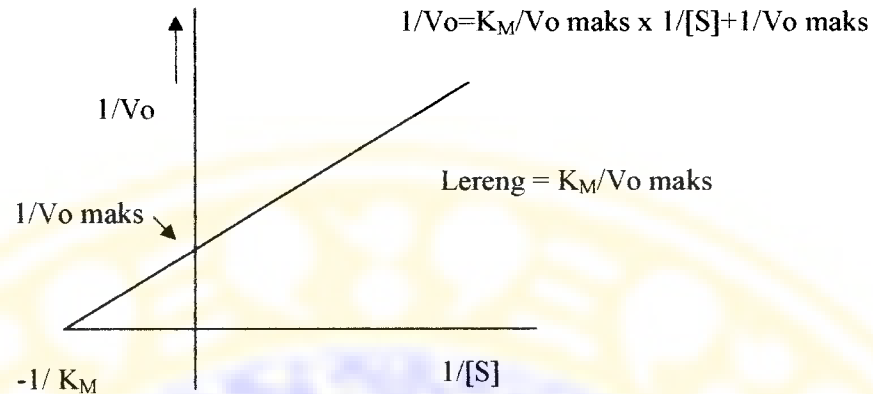
$$V = \frac{V_o \text{ maks } [S]}{[S] + K_M}$$

2.7.2 Alur Lineweaver-Burk

Suatu cara yang baik untuk mengevaluasi K_M dan V_{maks} adalah memplot data kinetik sebagai perbandingan terbalik dari V dan $[S]$. Plot perbandingan terbalik ganda tersebut telah diajukan oleh Hans Lineweaver dan Dean Burk pada tahun 1934. Jika perbandingan terbalik masing-masing sisi dari persamaan Michaelis-Menten diambil, maka dapat diturunkan pernyataan berikut :

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_M}{V_o \text{ maks}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_o \text{ maks}}$$

Persamaan ekuivalen untuk menyatakan matematis suatu garis lurus : $y=ax+b$. Jadi, idealnya suatu plot Lineweaver-Burk dari data kinetik menghasilkan suatu garis dengan suatu lereng= K_M/V_o maks dan pintasan $1/[S]$ dan $1/V$ masing-masing = $-1/K_M$ dan $1/V_o$ maks. Gambar di bawah ini menunjukkan suatu plot yang didapat jika suatu enzim memperlihatkan inhibisi substrat ataupun aktivasi substrat (Armstrong, 1995).



Gambar 2.6 Plot Lineweaver-Burk : suatu grafik dari $1/v$ versus $1/[S]$

2.8 Tinjauan tentang inhibitor enzim dan inhibitor hialuronidase

Zat yang secara spesifik menurunkan kecepatan reaksi enzimatik disebut inhibitor. Macam-macam Inhibitor ada dua yaitu Reversibel dan Ireversibel

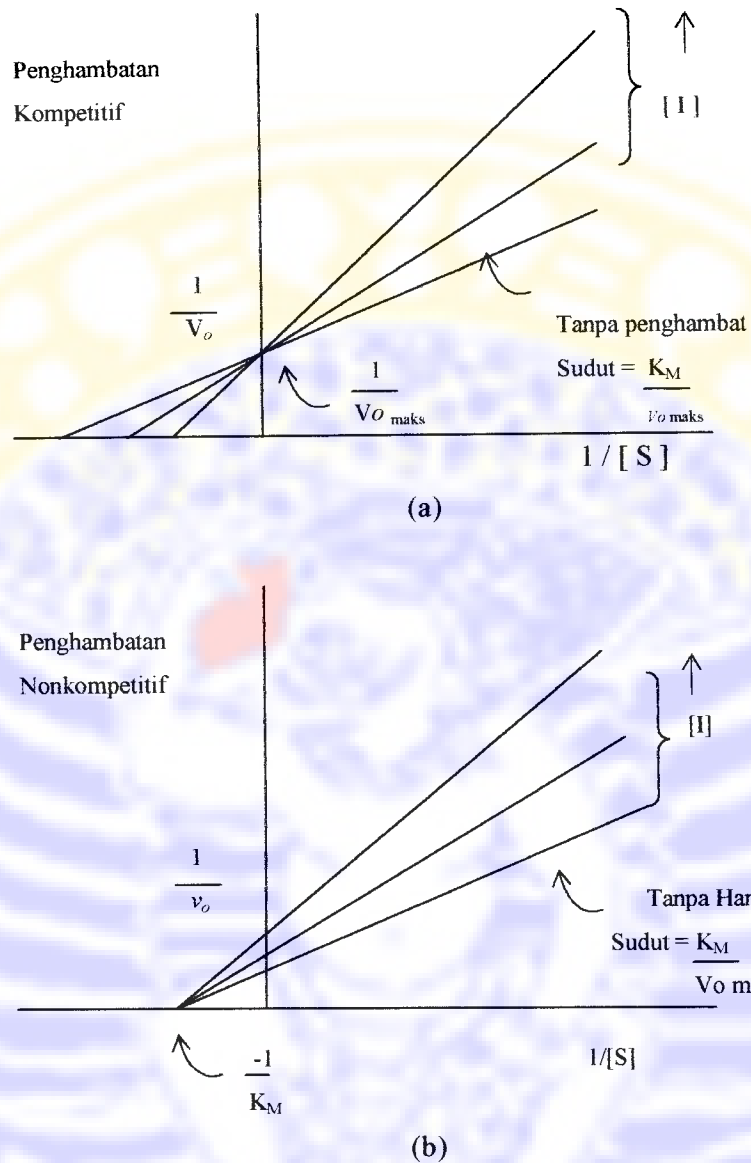
2.8.1 Inhibisi Reversible

(1) Inhibisi Kompetitif

Seperti nama yang digunakan, suatu inhibitor kompetitif secara klasik merupakan suatu senyawa yang berkompetisi dengan suatu substrat alamiah dari enzim untuk tempat aktif. Inhibitor seperti ini secara struktural hampir selalu mirip dengan substrat alamiah, dan melalui cara menirunya, berikatan dengan enzim dan menghalangi aktivitas katalitik. Inhibisi kompetitif adalah reversibel dan cepat diatasi dengan dengan meningkatkan konsentrasi substrat. Efektivitas dari suatu inhibitor kompetitif ditentukan oleh afinitas relatif yang dimiliki enzim terhadap substrat dan inhibitor (Armstrong, 1995).

(2) Inhibisi nonkompetitif

Inhibisi nonkompetitif umumnya karakteristik sebagai suatu inhibisi dari aktivitas enzimatik melalui senyawa yang tidak mempunyai hubungan struktural dengan substrat dan karena itu inhibisi tidak dibalik oleh peningkatan konsentrasi substrat. Tidak seperti inhibitor kompetitif, inhibitor nonkompetitif reversibel tidak dapat berinteraksi pada tempat aktif, tetapi berikatan dengan beberapa bagian lain dari suatu enzim atau kompleks enzim-substrat.



Gambar 2.7 Grafik Lineweaver-Burk (a) inhibisi kompetitif dan (b) nonkompetitif (Lehninger, 1982)

2.8.2 Inhibisi Ireversibel

Inhibisi ireversibel biasanya tidak mengaktifkan enzim dengan berikatan secara kovalen pada tempat aktifnya. Walaupun inhibisi ireversibel pernah dikategorikan dan diuji sebagai inhibisi nonkompetitif, namun saat ini dikenal sebagai suatu jenis inhibisi khas (Armstrong, 1995).

2.8.3 Inhibitor hialuronidase

Inhibitor hialuronidase ini secara alami tidak ditemukan dalam seminal plasma, tetapi ada di dalam serum. Penambahan serum pada spermatozoa atau pada enzim hialuronidase dapat mencegah dispersi kumulus ooforus secara in vitro. Namun tidak ada hubungan antara sterilitas pria dengan konsentrasi hialuronidase dalam serum (Kusumarini, 1997).

Flavonoid telah diketahui sebagai inhibitor hialuronidase. Pada tahun 1950 Rodney et al melaporkan tentang pengaruh beberapa flavonoid pada hialuronidase menggunakan metode in vitro dan in vivo. Kuppusamy et al telah menyelidiki bahwa flavon, flavanol, dan chalcone memiliki kemampuan untuk menghambat hialuronidase. Penyelidikan juga menunjukkan bahwa bahan-bahan tersebut bertindak sebagai inhibitor kompetitif (Demeester and Vercruyse, 1997).

2.9 Tinjauan tentang aktivitas enzim

Jumlah enzim yang sangat kecil terdapat dalam sel memberi masalah pada penentuan jumlah enzim dalam ekstrak atau cairan jaringan dibanding dengan penentuan konsentrasi senyawa organik atau anorganik. Aktivitas katalitik enzim dapat membantu pengukuran dari alat yang sensitif dan spesifik. Pengukuran jumlah enzim dalam sample ekstrak jaringan atau cairan biologi adalah dengan mengukur kecepatan reaksi yang dikatalisis oleh enzim tersebut. Pada keadaan optimum yang diukur sebanding dengan jumlah enzim yang ada. Pengukuran enzim dapat juga diukur berdasarkan kecepatan reaksi yang dikatalisis dibanding kecepatan reaksi enzimatik yang dikatalisis oleh enzim murni dengan kadar diketahui. Dengan cara demikian dapat mengukur jumlah enzim, umumnya dinyatakan dalam mikrogram.

Mengingat pembuatan sulit dan mahal, maka banyak enzim yang tersedia masih belum murni dan biasanya jumlah enzim dinyatakan dalam unit. Menurut international union of biochemistry (IUB) satuan internasional unit (IU) enzim adalah jumlah enzim yang mengkatalisa pembentukan 1 mikromol produk permenit pada kondisi tertentu.

2.10 Pengukuran aktivitas enzim hialuronidase

2.10.1 Metode fisika kimia

Pengukuran aktivitas enzim hialuronidase menggunakan fisika kimia berdasarkan karakteristik dari substrat dan produk degradasi enzim tersebut, ada tiga metode yang digunakan :

1. Metode '*mucin clot prevention*'

Metode ini berdasarkan perubahan formasi gumpalan "mucin" yang khas dari larutan hialuronat. Waktu yang diperlukan untuk hilangnya gumpalan dari asam hialuronat menunjukkan adanya hialuronidase. Keadaan ini digunakan untuk menentukan aktivitas hialuronidase.

2. Metode viskometrik

Pengurangan viskositas secara langsung merupakan akibat dari aksi enzim hialuronidase pada asam hialuronat, sejak pemecahan ikatan glikosida memberikan penurunan viskositas rata-rata berat molekul dan volume hidrodinamik dari polimer hialuronat dan karena terjadi penurunan intrinsik dan viskositas relative. Penentuan kecepatan reaksi, berupa jumlah mol dari ikatan yang terpecah perunit waktu dari data viskositas.(Prajogo,2002)

3. Metode turbidimetrik

Metode ini berdasar pengukuran kekeruhan yang terjadi seiring dengan penurunan viskositas asam hialuronat, karena kerja dari hialuronidase. Hal ini terjadi karena peningkatan jumlah kelompok anionic yang berinteraksi dengan protein, dan diikuti penurunan secara random pemecahan polimer menghasilkan partikel dibawah minimal panjang rantai untuk menghasilkan kekeruhan. Formasi kekeruhan menghilang pada berat molekul yang diperkirakan antara 6000-8000 dalton. Penghilangan kekeruhan ini yang menunjukkan kerja hialuronidase (Prajogo,2002).

2.10.2 Metode kimia

1. Metode Kolorimetri

Hialuronidase mengkatalisis degradasi asam hialuronat yang membebaskan kelompok akhir asetilglukosamina, hal mana dapat diukur pada kolorimetri. Pada pengujian ini, gula anhidro pertama terbentuk dari N-asetilglukosamina pada larutan alkali, kemudian diubah dalam larutan asam menjadi derivat furan, reaksi dengan p-dimetilaminobenzaldehid berubah warna. Intensitas warna tersebut dianalisa dengan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 585 nm. Jumlah asetilglukosamina yang terbebaskan perunit waktu merupakan ukuran dari aktivitas hialuronidase.

2. Metode Neocuprine

Pada metode ini menggunakan reagen yang berisi campuran Na_2CO_3 4 g, glycin 16 g dan $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ 450 mg dilarutkan dalam 1 liter air dan reagen neocuprine yang berisi 150 mg disuspensikan dalam 80 ml air, tambahkan HCL 1 M beberapa tetes untuk melarutkan kemudian tambahkan air sampai 100 ml. Kedua reagen ini dicampur dengan sampel enzim Cu^{2+} diubah menjadi Cu^{2+} yang terikat pada neocuprine menghasilkan absorban tertentu pada spektrofotometri.

3. Metode Lempeng mikro

Berdasarkan asam hialuronat oleh enzim hialuronidase, akan mengendap dengan penambahan setilpiridium klorida, menyebabkan penampakan lingkaran jernih yang menunjukkan jarak difusi kerja enzim. Hasil pengendapan asam hialuronat dengan setilpiridium klorida dapat dianalisa dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 595 nm. Absorban hasil Spektrofotometer UV-VIS menunjukkan jumlah asam hialuronat yang tidak terhidrolisis dan mengendap dengan setilpiridium klorida (Tung *et. al.*, 1994)

Pada optimasi aktivitas hialuronidase mencit memiliki persamaan dengan aktivitas enzim hialuronidase testis sapi yang telah diteliti sebelumnya dengan menggunakan metode yang sama. Hialuronidase testis sapi bekerja optimal pada buffer Na_2PO_4 1,3 M pada pH 7 dan memberikan aktivitas maksimal setelah inkubasi lebih dari 5 jam (Tung *et.al.*, 1994). Metode lempeng mikro memiliki

sensitivitas tinggi untuk pengukuran aktivitas hialuridase karena dapat mengkatalisis sample dengan aktivitas samapai 0,1 pikokatal.

2.11 Tinjauan tentang metode Morgan-Elson

Metode kolorimetri berdasarkan reaksi Morgan-Elson adalah yang paling praktis dan paling banyak digunakan. Metode ini juga yang paling terpercaya secara stoikiometri.. Metode saat ini seperti ELISA, PAGE, zymography menjadi semikuantitatif dan sangat sensitif tetapi memerlukan reagen khusus atau waktu yang lama dan menyusahkan jika dilakukan untuk pengujian rutin.

Pada metode Morgan-Elson , substrat asam hialuronat dan inhibitor dipreinkubasi terlebih dahulu untuk mengoptimalkan suhu inkubasi. Setelah sampel enzim ditambahkan, campuran enzim, substrat dan inhibitor diinkubasi selama 20 menit untuk bereaksi. Reaksi enzimatik tersebut dihentikan dengan dimasukkan kedalam air mendidih. Penambahan reagen tetraborat akan memberikan kondisi basa dan pada suhu 100°C akan mengubah Glukosamin N-asetat menjadi Kromogen I dan II. Penambahan reagen p-dimetil aminobenzaldehid akan memberikan kondisi asam sehingga Kromogen I dan II berubah menjadi Kromogen III dan kemudian terjadi reaksi antara Kromogen III dan p-dimetil aminobenzaldehid menghasilkan produk dengan warna ungu kemerahan yang memberikan absorbansi pada panjang gelombang 585 nm (Takahashi *et.al.*, 2003).

Metode ini dipilih karena praktis, mempunyai sensitifitas, waktu analisa yang cepat dan memerlukan jumlah substrat dan enzim yang sedikit.

BAB III

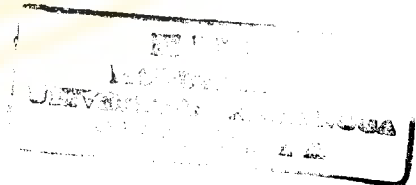
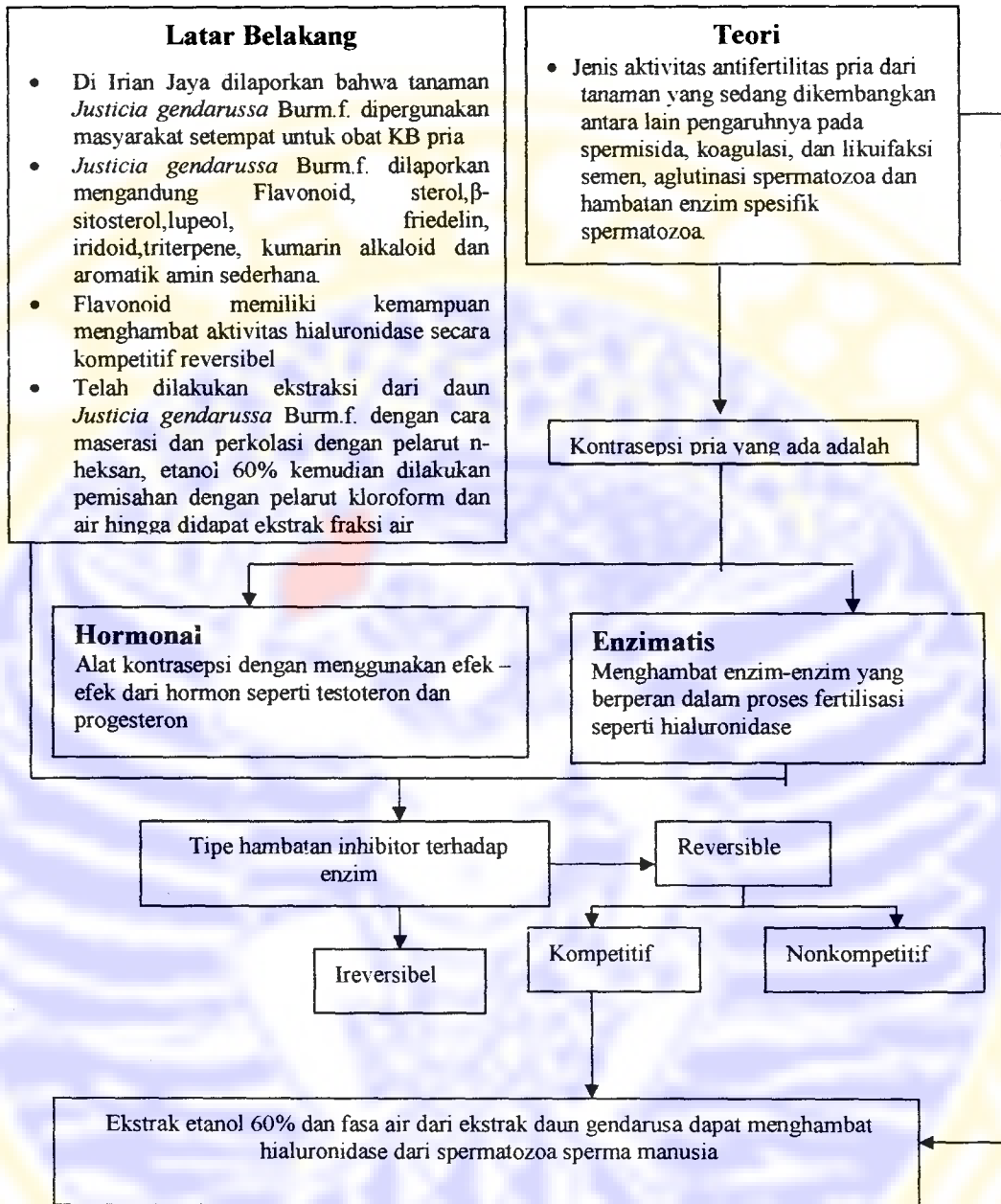
KERANGKA KONSEPTUAL

Dalam usaha menekan kesuburan perkawinan dalam rangka membentuk keluarga kecil dan menghindari peledakan penduduk, berbagai macam cara kontrasepsi telah dipergunakan, baik metode untuk wanita maupun metode untuk pria. Dengan kemajuan dalam spermatologi diharapkan ditemukan dan dapat dipergunakan suatu macam 'pil lelaki' untuk kontrasepsi. Usaha ditekankan pada penemuan obat-obat anti spermatogenik yang dapat melenyapkan aktivitas spermatogenesis tanpa mempengaruhi libido, peristiwa ejakulasi dan tingkah laku seksual dan yang dianggap aman (Suhadi, 1979).

Spermatozoa terdiri atas kepala dan ekor. Dibagian luar, dua pertiga anterior kepala terdapat selubung tebal yang disebut *akrosom*. Selubung ini mengandung sejumlah enzim yang serupa dengan enzim yang ditemukan pada lisosom dari sel sel khusus, termasuk hialuronidase. Enzim ini memainkan peranan penting sehingga memungkinkan sperma untuk membuahi ovum (Guyton, 1997).

Di Irian Jaya *Justicia gendarussa* Burm.f digunakan oleh masyarakat setempat sebagai bahan kontrasepsi pria. *Justicia gendarussa* Burm.f dilaporkan mengandung Flavonoid, sterol, β -sitosterol, lupeol, friedelin, iridoid, triterpene, kumarin alkaloid dan aromatik amin sederhana. Dari penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa ekstrak dikloromentan dan metanol daun *Justicia gendarussa* Burm.f dapat menurunkan motilitas dan viabilitas spermatozoa kelinci, mencit dan manusia in vitro dan spermatogenesis mencit.

Oleh karena itu maka dilakukan penelitian yang terkait dengan penghambatan ekstrak *Justicia gendarussa* Burm.f terhadap aktivitas dari hialuronidase. Apabila terbukti kandungan dari ekstrak tersebut dapat menghambat hialuronidase secara kompetitif reversibel maka ekstrak *Justicia gendarussa* Burm.f dapat dikembangkan menjadi obat kontrasepsi pria dimasa depan.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan pada bulan Februari 2005 sampai Juli 2005 di Pusat Penelitian Biologi Molekular (Puslit Biomol) Universitas Jember

4.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan antara lain *crude* enzim hialuronidase hasil dari isolasi spermatozoa manusia, fraksi Etanol 60% dan fasa air *Justicia gendarussa* Burm.f., NaCl, NaOH, asam hialuronat (HA), *N-acetyl-D-glucosamine* (GlcNAc), tetraborat reagen, Pereaksi p-dimethylaminobenzaldehyde (DMAB), HCl, asam asetat glacial, Dimethyl sulfoxide (DMSO), *buffer formic*, *saccharic acid 1,4-lactone* (sigma), aquadest.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikropipet, inkubator (Taitec), spektrophotometer (U-2001), vortex, ependorf, *water bath*, pH meter (Hanna), peralatan gelas,

4.3 Prosedur Penelitian

4.3.1 Preparasi Bahan Uji

Fraksi etanol 60% dan fasa air *Justicia gendarussa* Burm.f. sebagai bahan uji dilarutkan dalam DMSO, untuk selanjutnya disebut larutan uji dan dibuat dalam 3 macam konsentrasi yaitu 0; 3058,87; 15294,34; 61177,36 ppm.

4.3.2 Pembuatan standar *N-acetyl-D-glucosamine* (GlcNAc)

Dibuat beberapa kadar GlcNAc yaitu 13,56; 27,12; 40,68; 5425 dan 67,81 nmol. Kemudian masing-masing kadar tersebut diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada $\lambda = 585$ nm. Data yang diperoleh diekstrapolasikan pada suatu grafik dengan absis konsentrasi GlcNAc dan sebagai ordinat adalah absorbannya. Selanjutnya diperoleh suatu persamaan baku linier GlcNAc.

4.3.2 Pengukuran Aktivitas Hialuronidase Metode Morgan – Elson

Larutan HA (Hyaluronic acid) 1,5 mg/ml dalam 0,1 M buffer formiat pH 3.9 yang mengandung 0,1 M NaCl dan 1,5 mM asam saccharic 1,4 lactone dipipet sebanyak 120 µl dan ditambahkan bahan uji (fraksi etanol 60% atau fasa air dari *Justicia gendarussa* Burm.f) dalam beberapa konsentrasi, dikocok kemudian dilakukan preinkubasi selama 5-10 menit pada 37°C. Enzim 25 µl ditambahkan kedalam campuran tersebut kemudian dikocok dan dilakukan inkubasi pada 37°C selama beberapa saat. Tabung tertutup yang berisi campuran tersebut dipanaskan dalam water bath mendidih selama 5 menit untuk menghentikan reaksi enzim. Setelah didinginkan sampai mencapai suhu ruang, sentrifuse sebentar untuk menjatuhkan embun air di dinding tabung. Pipet 25 µl tetraborat reagen ke dalam tabung yang berisi campuran tersebut dan juga tabung yang berisi seri GlcNAc standar. Segera kocok dan panaskan selama 3 menit dalam water bath mendidih. Setelah didinginkan sampai mencapai suhu ruang, sentrifuse sebentar. Kemudian ditambahkan 750 µl pereaksi p-dimethylaminobenzaldehyde (DMAB), kocok dan inkubasi pada 37°C selama 20 menit, Selanjutnya disentrifuse pada 12000 rpm pada 4°C selama 10 menit untuk menghilangkan kekeruhan. Lalu larutan campuran tersebut diukur absorbansi supernatannya pada 585 nm dan dibandingkan dengan Blanko. Blanko dibuat dengan cara yang sama, hanya saja campuran reaksi enzim tidak diinkubasi.

Data absorban yang diperoleh kemudian dimasukkan dalam persamaan baku GlcNAc sehingga akan didapat konsentrasi GlcNAc yang merupakan produk dari reaksi enzimatik hialuronidase dan asam hialuronat. Nilai tersebut yang nantinya menunjukkan aktivitas hialuronidase. Adanya penurunan aktivitas hialuronidase ditunjukkan dengan semakin sedikitnya kadar produk (GlcNAc) yang terbaca dalam spektrofotometer.

4.3.4 Penentuan Tipe Hambatan Fraksi Etanol 60% dan Fasa Air Gendarusa Terhadap Aktivitas Hialuronidase

Tipe hambatan fraksi etanol 60% dan fasa air gendarusa terhadap aktivitas hialuronidase ditentukan dengan terlebih dahulu membuat seri substrat dengan berbagai kadar yaitu 1,24; 2,49; 3,74; 4,99 dan 6,23 mM. Kemudian pada masing-

masing seri dilakukan pengukuran aktivitas hialuronidase sesuai metode Morgan-Elson.

Data yang diperoleh berupa absorbansi kemudian ditentukan nilai produknya dengan memasukkan pada persamaan baku GlcNAc. Selanjutnya dibuat suatu grafik dengan absis waktu inkubasi yaitu 0; 2.5; 5; 10; 15; 20; 30; 40 dan 60 menit dengan ordinat nilai produk. Dari grafik yang diperoleh kemudian ditentukan nilai V_0 sebesar $\tan \alpha$ (α = sudut kemiringan grafik).

Setelah masing-masing kadar substrat diperoleh nilai v_0 -nya, selanjutnya dibuat dalam grafik kebalikan ganda Michaelis-Menten (grafik Lineweaver-Burk) dengan absis $1/[S]$ dan ordinat $1/V_0$. Kemudian grafik yang diperoleh dibandingkan pada grafik literatur apakah tipe penghambatannya kompetitif ataukah nonkompetitif.

4.4 Analisis Data

4.4.1 Pengukuran aktivitas hialuronidase

Absorbansi yang diperoleh dari pengukuran aktivitas sampel ditentukan nilai/kadar produknya (GlcNAc) dengan memasukkan dalam persamaan baku GlcNAc yang telah dibuat.

Adanya penurunan aktivitas hialuronidase menunjukkan bahwa *Justicia gendarussa* Burm.f dapat menghambat aktivitas hialuronidase.

4.4.2 Penentuan tipe hambatan

Tiap-tiap kadar substrat $[S]$ dengan nilai V_0 -nya dibuat dalam suatu grafik dengan absis $1/[S]$ dan ordinat $1/V_0$. Gambar grafik yang diperoleh dibandingkan dengan grafik Lineweaver-Burk sehingga dapat diketahui apakah tipe penghambatan fraksi etanol 60% maupu fasa air gendarusa kompetitif ataukah nonkompetitif.

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Pembuatan Kurva standart Glukosamin N-asetat

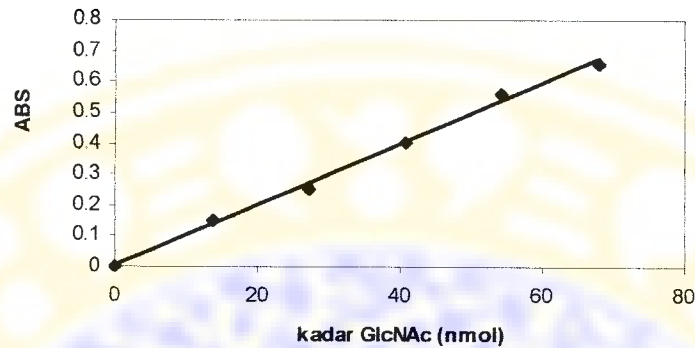
Dengan mereaksikan Glukosamin N-asetat pada berbagai rentang kadar dengan reagen tetraborat dan p-dimetilaminobenzaldehyde sesuai dengan metode Morgan-Elson diperoleh sebuah persamaan regresi linier $y = ax + b$ dengan kadar Glukosamin N-asetat sebagai x dan absorbansi Glukosamin N-asetat sebagai y .

Data pengukuran absorbansi Glukosamin N-asetat pada berbagai kadar dapat dilihat pada Tabel 5.1 sedangkan kurva standar Glukosamin N-asetat dapat dilihat pada Gambar 5.1 dengan persamaan regresi $y = 0.0098x + 0.0053$ ($R^2 = 0.99$)

Tabel V.1. Data pengukuran absorbansi Glukosamin N-asetat

kadar Glukosamin N-asetat (nmol)	Absorbansi (λ 585 nm)
0	0
13.56	0.152
27.12	0.255
40.68	0.404
54.25	0.561
67.81	0.657

Gambar 5.1. Kurva standar Glukosamin N-asetat



Dalam metode Morgan-Elson, aktivitas hialuronidase dapat diketahui dari kadar Glukosamin N-asetat yang merupakan produk hidrolisa dari substrat (Asam hialuronat) yang berwarna ungu pada penambahan reagen tetraborat dan p-dimetilaminobenzaldehid yang terdeteksi pada λ 585 nm

Kadar Glukosamin N-asetat yang terhidrolisa dari substrat oleh hialuronidase dapat diketahui dengan memasukkan data absorbansi masing-masing kelompok perlakuan kedalam persamaan regresi diatas.

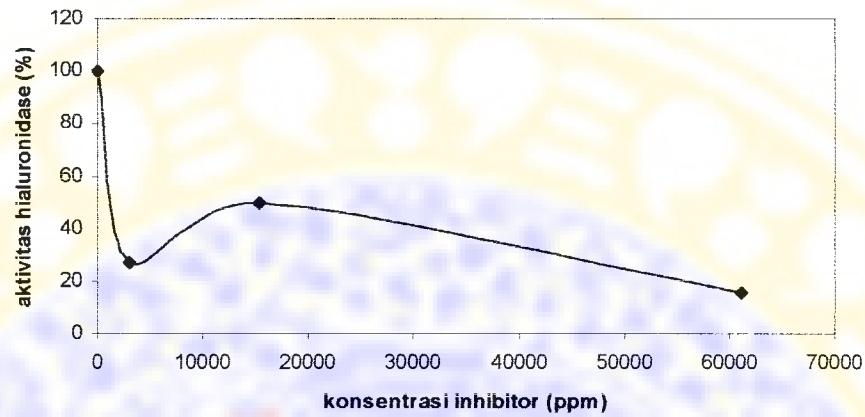
5.2 Hasil Pengukuran Efek Penghambatan Aktivitas hialuronidase

Pengukuran Efek Penghambatan Aktivitas hialuronidase dilakukan dengan menggunakan fraksi etanol daun gendarusa dalam beberapa konsentrasi dapat dilihat pada Tabel V.2 dan Gambar 5.2

Tabel V.2 Pengukuran Efek Penghambatan Aktivitas hialuronidase

Konsentrasi inhibitor ppm	absorbansi	Aktivitas spesifik unit*/mg x 10 ⁻²	aktivitas %
0	0.027	0.0052	100
3058.87	0.011	0.0014	26.92
15294.34	0.016	0.0026	50.00
61177.36	0.002	0.0008	15.38

Satu unit adalah jumlah enzim yang mengkatalisa pembentukan 1 nmol Glukosamin N-asetat permenit. Aktivitas spesifik adalah 1 unit per total protein. Total protein dari hialuronidase adalah 85.63 mg.



Gambar 5.2 Pengaruh penambahan fraksi etanol 60% terhadap prosentasi penurunan aktivitas hialuronidase

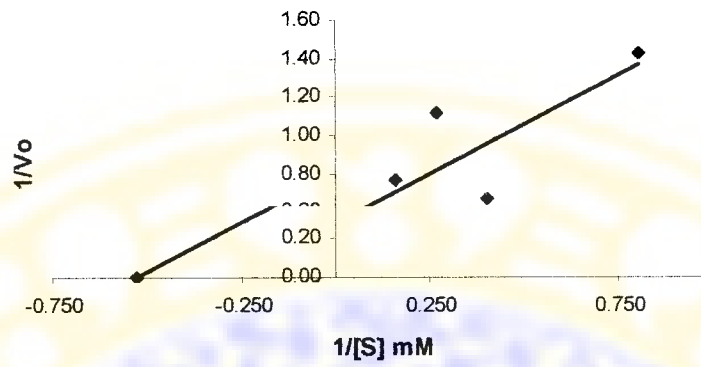
5.3. Penentuan Tipe Hambatan

Data kinetik hialuronidase dengan uji penentuan tipe hambatan, yaitu oleh penghambat : fraksi etanol dan fasa air daun gendarusa dengan dosis 15294.34 ppm, dapat dilihat pada Tabel V.3

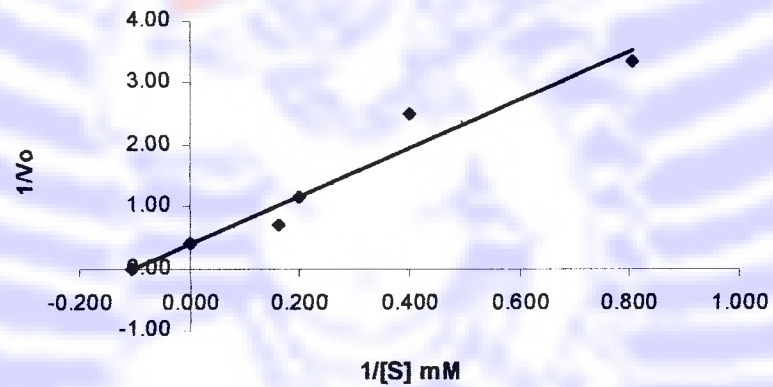
Tabel V.3. Ringkasan Nilai K_M dan V_o maks hialuronidase pada substrat GlcNAc antara fraksi etanol 60% dan fasa air

Inhibitor	K_M (mM)	V_o maks (mM/menit)
Tanpa Inhibitor	1.89	1.85
Fraksi etanol	9.43	2.43
Fraksi Air	19.61	1.96

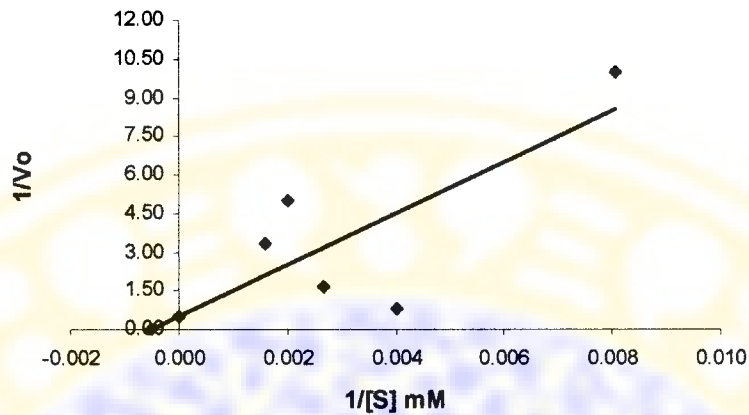
Grafik kebalikan ganda Michaelis-Menten (grafik Lineweaver-Burk) dengan absis $1/[S]$ dan ordinat $1/V_o$. terbentuk dari 3 garis persamaan regresi yaitu persamaan regresi dari percobaan tanpa inhibitor, dengan fraksi etanol dan fasa air. Masing grafik ditunjukkan oleh Gambar 5.3 , 5.5 ,dan 5.6



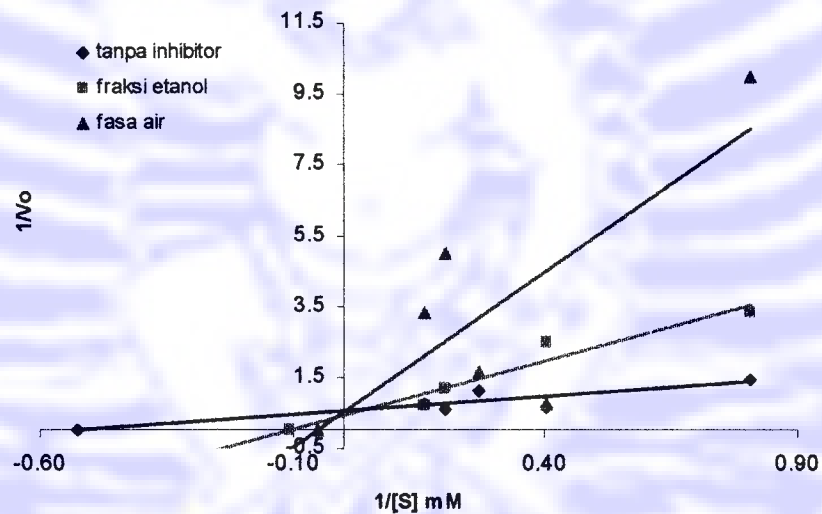
Gambar 5.3 Penentuan nilai K_M dan V_{maks} hialuronidase pada substrat GlcNAc dengan menggunakan kurva Lineweaver-Burk.



Gambar 5.4 Pengaruh penambahan fraksi etanol 60% terhadap nilai K_M dan V_0 maks hialuronidase pada substrat GlcNAc dengan menggunakan kurva Lineweaver-Burk



Gambar 5.5 Pengaruh penambahan fasa air terhadap nilai K_M dan V_o maks hialuronidase pada substrat GlcNAc dengan menggunakan kurva Lineweaver-Burk



Gambar 5.6. Grafik perbandingan nilai K_M dan V_o maks hialuronidase pada substrat GlcNAc antara penambahan fraksi etanol 60% dan fasa air dengan menggunakan kurva Lineweaver-Burk

BAB VI

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini hialuronidase yang berupa *crude* enzim berasal dari hasil isolasi spermatozoa manusia. Sedangkan inhibitor yang digunakan adalah fraksi etanol dan fasa air yang diekstraksi dari daun *Justicia gendarussa* Burm.f. dengan cara maserasi dan perkolasi dengan pelarut n-heksan, etanol 60% kemudian dilakukan pemisahan dengan pelarut kloroform dan air hingga didapat ekstrak fraksi etanol 60% dan fasa air

Untuk menentukan tipe hambatan hialuronidase oleh fraksi etanol 60% dan fasa air *Justicia gendarussa* Burm.f diperlukan penentuan aktivitas hialuronidase. Ada banyak metode yang dapat digunakan untuk menentukan aktivitas hialuronidase tapi pada penelitian ini digunakan metode Morgan-Elson.

Pada metode Morgan-Elson, substrat asam hialuronat dan inhibitor dipreinkubasi terlebih dahulu untuk mengoptimalkan suhu inkubasi. Setelah sampel enzim ditambahkan, campuran enzim, substrat dan inhibitor diinkubasi selama 20 menit untuk bereaksi. Reaksi enzimatis tersebut dihentikan dengan dimasukkan kedalam air mendidih. Penambahan reagen tetraborat akan memberikan kondisi basa dan pada suhu 100°C akan mengubah Glukosamin N-asetat menjadi Kromogen I dan II. Penambahan reagen p-dimetil aminobenzaldehyde akan memberikan kondisi asam sehingga Kromogen I dan II berubah menjadi Kromogen III dan kemudian terjadi reaksi antara Kromogen III dan p-dimetil aminobenzaldehyde menghasilkan produk dengan warna ungu kemerahan yang memberikan absorbansi pada panjang gelombang 585 nm (Takahashi et.al.,2003).

Dalam metode Morgan-Elson, aktivitas hialuronidase dapat diketahui dari kadar Glukosamin N-asetat yang merupakan produk hidrolisa dari substrat (Asam hialuronat) Kadar Glukosamin N-asetat tersebut dapat diketahui dengan memasukkan data absorbansi masing-masing kelompok perlakuan kedalam

persamaan regresi dari kurva standar $y = 0,0098x + 0,0053$. Aktivitas hialuronidase dapat dinyatakan dalam bentuk unit yaitu jumlah enzim yang mengkatalisa pembentukan satu nmol produk permenit. Aktivitas spesifik adalah aktivitas enzim pertotal protein dan dinyatakan dalam unit/mg

Pada uji penentuan Tipe hambatan Fraksi etanol 60% dan fasa air *Justicia gendarussa* *Burm.f.* terlebih dahulu ditentukan konsentrasi inhibitor yang digunakan sehingga dilakukan Pengukuran Efek Penghambatan Aktivitas hialuronidase oleh inhibitor yaitu fraksi etanol dalam beberapa konsentrasi yaitu 0; 3058,87; 15294,34 dan 61177,36 ppm. Diperoleh bahwa pada konsentrasi 15294,34 terjadi penghambatan sebesar 50% sehingga konsentrasi ini digunakan untuk uji penentuan Tipe hambatan

Pada uji penentuan Tipe hambatan Fraksi etanol dan fasa air *Justicia gendarussa* *Burm.f.* digunakan lima konsentrasi substrat, yaitu 1,24; 2,49; 3,74; 4,99 dan 6,23 mM dan Inhibitor dengan konsentrasi yang tetap yaitu 15294,34 ppm. Dari beberapa konsentrasi substrat tersebut diperoleh kurva beberapa waktu inkubasi (0; 2,5; 5; 10; 15; 20; 30; 40; 60 menit) Vs produk (GlcNAc). Nilai tangen dari kurva tersebut sama dengan nilai kecepatan reaksi V_o . Kemudian dilakukan pemetaan kebalikan ganda data kecepatan enzim yaitu kebalikan ($1/V_o$) dari kecepatan reaksi V_o dipetakan terhadap kebalikan konsentrasi substrat [S], yaitu $1/[S]$. Titik potong pada sumbu x ($y=0$) merupakan nilai dari $-1/K_M$ sedangkan titik potong pada sumbu y ($x=0$) merupakan nilai dari $1/V_o$ maks

Konsentrasi substrat yang diperlukan untuk kecepatan paruh maksimum ($1/2 V_o$ maks) disebut nilai K_M (Konstanta Michaelis) dan dapat dipertimbangkan sebagai suatu perkiraan ukuran afinitas suatu enzim terhadap substratnya. Semakin rendah nilai K_M semakin tinggi afinitasnya. Oleh karena itu adanya inhibitor akan merubah nilai K_M menjadi semakin besar karena substrat harus berkompetisi dengan inhibitor untuk mengikat enzim. Nilai K_M yang diperoleh dari penelitian yaitu K_M tanpa inhibitor 1,89mM; K_M dengan inhibitor fraksi etanol 2,43 mM dan K_M dengan inhibitor fasa air 19,61 mM. Adanya inhibitor akan menurunkan afinitas enzim terhadap substrat sehingga diperlukan konsentrasi substrat yang lebih tinggi untuk mencapai V_o maks sehingga nilai K_M meningkat.

V_o maks merupakan kecepatan reaksi dimana enzim telah jenuh oleh substrat dan tidak dapat berfungsi lebih cepat lagi. Jika konsentrasi inhibitor ditingkatkan maka nilai V_o maks akan semakin besar. Pada tipe hambatan kompetitif, nilai V_o maks tetap karena telah terjadi kejenuhan enzim oleh substrat maupun inhibitor. Pada konsentrasi S yang sangat tinggi ($1/[S] = 0$), V_o maks sama seperti keadaan tanpa inhibitor. Nilai V_o maks yang diperoleh dari penelitian yaitu 1.85- 2.43. Sebenarnya diperlukan uji statistik untuk mengetahui apakah nilai V_o maks bisa dianggap sama tapi dalam penelitian ini jumlah sampel terlalu sedikit sehingga tidak bisa dilakukan uji statistik.

Dari kedua parameter yaitu K_m dan V_{maks} menunjukkan bahwa penghambatan fraksi etanol dan fasa air *Justicia gendarussa* Burm.f bersifat mirip dengan kompetitif reversibel. Pada penelitian sebelumnya juga telah dibuktikan bahwa Reversibilitas fertilitas mencit jantan dapat kembali ke kondisi normal, 100 %, setelah perlakuan dari dosis 26,06; 18,39 mg/20 g BB mencit dan hesperidin dihentikan selama 1 siklus spermatogenesis.

Hal ini mendukung hipotesis penelitian ini bahwa fraksi etanol 60% dan fasa air *Justicia gendarussa* Burm.f dapat menghambat aktivitas hialuronidase dengan tipe hambatan kompetitif reversibel

Obat kontrasepsi harus bersifat reversibel sehingga jika pemberian obat dihentikan, fungsi penetrasi dapat kembali normal sehingga pada penelitian ini diharapkan tipe hambatan gendarusin terhadap aktivitas hialuronidase bersifat reversibel..Obat kontrasepsi juga harus dapat 100% menghambat fertilisasi. Karena fraksi etanol dan fasa air *Justicia gendarussa* Burm.f dapat menghambat aktivitas hialuronidase dengan tipe hambatan kompetitif reversibel maka *Justicia gendarussa* Burm.f bisa digunakan sebagai acuan obat kontrasepsi dimasa depan. Namun demikian pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan penelitian tentang konsentrasi fraksi etanol dan fasa air *Justicia gendarussa* Burm.f yang dapat memberikan hambatan terhadap aktivitas hialuronidase sebesar 100% sehingga fertilisasi dijamin tidak akan terjadi.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Pada konsentrasi 15294.34 ppm dari fraksi etanol 60% terjadi penghambatan terhadap aktivitas hialuronidase spermatozoa manusia sebesar 50%
2. Hambatan Fraksi etanol 60% dan fasa air *Justicia gendarussa* Burm.f terhadap aktivitas hialuronidase spermatozoa manusia bersifat mirip dengan hambatan kompetitif reversibel

7.2 Saran

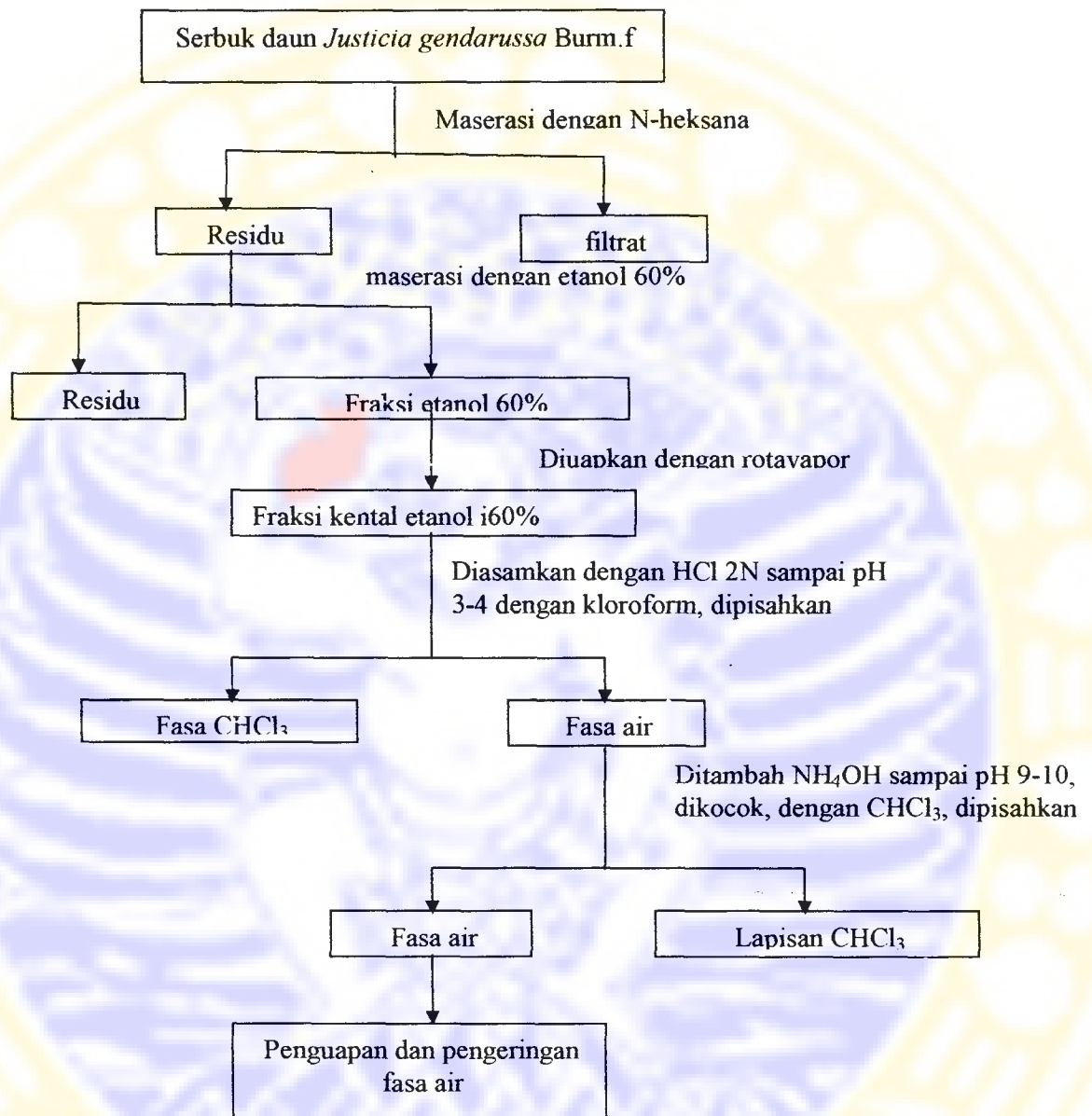
1. Perlu penambahan jumlah sampel agar dapat dilakukan uji statistik terhadap data yang diperoleh.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang dosis hambatan Fraksi etanol 60% dan fasa air *Justicia gendarussa* Burm.f terhadap aktivitas hialuronidase.

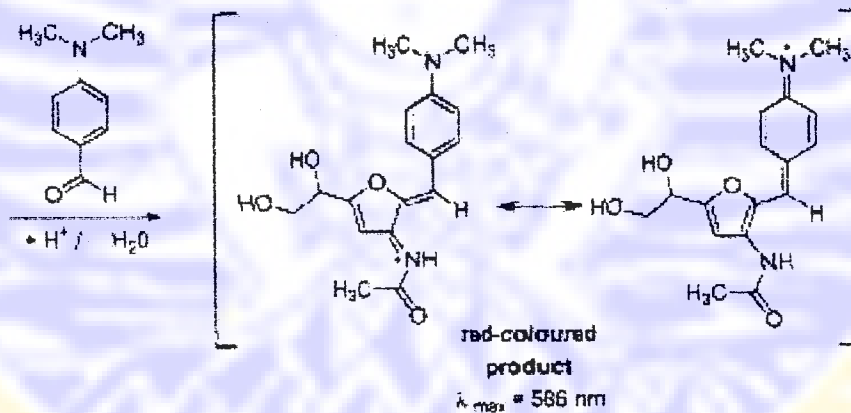
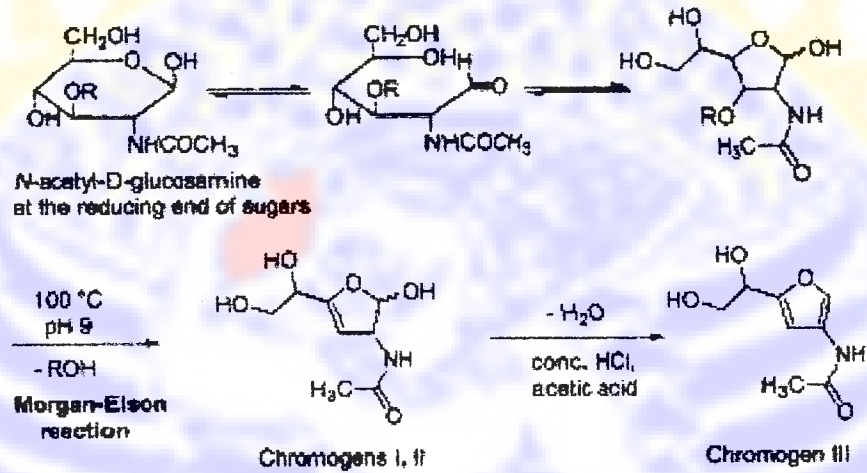
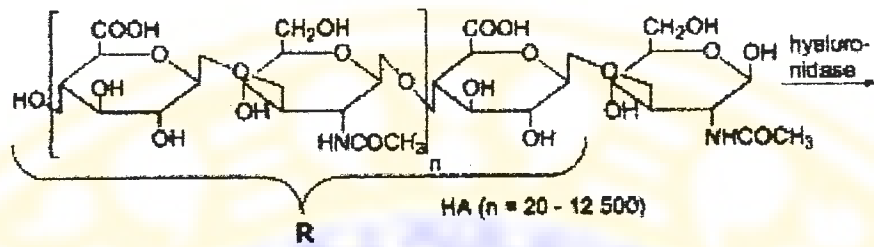
DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1995. **Materia Medika Indonesia**, Jilid VI, Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal.109-113.
- Anonim, 2004. **Tanaman Obat Indonesia**. <http://iptek.net.id/ind/cakra-obat/tanamanobat.php> diakses pada tanggal 7 Juni 2004.
- Armstrong,F.B., 1995. **Buku Ajar Biokimia**, diterjemahkan dr. RF. Maulany, MSc., Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, p. 100-109.
- Backer, C. A., R. C. B., Van Den Brink Jr., 1963. **Flora of Java**, Vol. II, The Auspices of The Rujksher Barium, Leyden, p. 589
- Demeester and Vercruysse, 1997. **Pharmaceutical Enzymes**, New York : Marcel Dekker, Inc, p.166-167.
- Guyton C.A, Hall E.J. 1996. **Fisiologi Kedokteran**. Penerbit Buku Kedokteran ,Jakarta.hal 1267-1270.
- Ikegami-Kawai, M. and Takahashi, T., 2002. **Microanalysis of Hyaluronan Oligosaccharides by Polyacrylamide Gel Electrophoresis and Its Application to Assay of Hyaluronidase Activity**. *Analytical Biochemistry* 311, 157 – 165.
- Kartikasari,D.,2005. **Studi Efek Penghambatan Fasa Air dan Fraksi Etanol Justicia gendarussa Terhadap Aktivitas Hialuronidase Testis Sapi**. Tesis Universitas Airlangga Surabaya.
- Kusmarini,S.L.1997. **Pengaruh Ekstrak DCM dan Metanol Daun *Gendarusa vulgaris* Ness Terhadap Aktivitas Enzim Hialuronidase Spermatozoa Pada Kumulus Ooforus Ovum Manusia in Vitro**.Skripsi Universitas Airlangga Surabaya,Indonesia.
- Lauwers, A., and Scharpe, S., 1997. **Pharmaceutical Enzymes**. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Martin David W.et al,. 1981. **Harper's Review of Biochemistry** 18th , Lang Medical Pblcation, Los Altos, California. p.437,439,442
- Montgomery Rex,dkk,. 1983. **Biokimia : Suatu Pendekatan Berorientasi Kasus**, Jilid I, diterjemahkan M.Ismadi.Gajah Mada University Press.Yogyakarta. H.181,191-192,204,217-212
- Murray, R.K, Granner D.K, Mayes P.A, Rodwell V.W.1997.**Biokimia Harper**. Edisi 24. Penerbit Buku Kedokteran. p.437,439,442

- Polakoski K.L. and Zeneveld L.J.D. 1976. **Biochemistry of Human Spermatozoa**, in: **E.SE.Hafez(ed) Human Semen and Fertility Regulation in Men**, chapter 15. C.V .Mosoy Company, St.Louis.London. p.167
- Prajogo, Bambang E.W., 1997. **Efek Inhibitor Fraksi Diklormetan dan Metanol dari *Justicia gendarussa* Burm.f. terhadap enzim Hialuronidase Mencit**, Surabaya : Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Prajogo, Bambang E.W., 2002. **Aktifitas Antifertilitas Flavonoid Daun *Justicia gendarussa* Burm.f.**, Penelitian Eksperimental Pencegahan Penetrasi Spermatozoa Mencit Dalam Proses Fertilisasi in Vitro. Disertasi Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya, Indonesia
- Sa'dullah,I., 2005. **Uji Reversibilitas Fertilitas Mencit Jantan Setelah Pemberian Fase Air *Justicia gendarussa* Burm.f.**,Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.Surabaya.
- Salzmann M and Schomburg D (eds). 1990. **Enzyme Handbook**. Springer, Verlay Berlin, Hesidelberg Newyork.E.C. Number 4.2.2.1
- Suhana, Nana dan Rafiah, Siti R.,1982. **Deferensiasi Embriologi dalam Tingkat Seluler, Subseluler, Molekul**.Penerbit FKUI.Jakarta.h.7
- Suhadi, K,1979. **Spermatologi**, Surabaya: Perkumpulan Andrologi Indonesia. (PANDI), hal.118-119.
- Takahashi, T., Ikegami-Kawai, M., Okuda, R. and Suzuki, K., 2003. A Fluorimetric Morgan-Elson Assay Method for Hyaluronidase Activity. **Analytical Biochemistry**, 322, 257 – 263.
- Tung, Juw-Sheng, Mark, G.E. and Hollis G.F., 1994. A Microplate Assay for Hyaluronidase and Hyaluronidase Inhibitors. **Analytical Biochemistry**, 223, 149 – 152.

Lampiran 1
Tahapan Ekstraksi daun *Justicia gendarussa* Burm.f.



Reaksi Morgan-Elson (Takahashi *et.al.*, 2003)

Lampiran 3 :**Hasil analisis spermatozoa volunteer A**

Nama : A Dokter :
 Alamat : Alamat :
 Umur : Diagnosa :

Hasil analisis sperma

Sampel	Abstinensia	hari	
Fisik	Tempat sperma	(1) gelas (2) plastik	
	Cara pengeluaran	(1) mast (2) CI (3) vibr	
	Lengkap	(1) ya (2) tidak	
	Bau	(1) khas (2) amis (3) busuk	
	Warna	(1) putih (2) kuning (3) jernih	
	Viskositas	2,0 Detik	
	Likwifaksi sempurna setelah	Menit	
Kwant	pH	7.2	
	Volume	MI 3.0	
	Jumlah sperma Perlaop Pandang (400X)		
Motil %	Konsentrasi spermatozoa	juta/ml 42.6	
	Jumlah total spermatozoa	juta/ejakulat	
	Diperiksa Menit setelah ejakulasi		
	a. sangat baik	a. 10	
	b. baik	b. 40	
	c. kurang baik	c. 20	
	d. tidak bergerak	d. 30	
	Motilitas total		
Prep Basah :	Viabelitas %		
	Aglutinasi	(Negatif (2) Pos HH/HT/TT/Camp	
	Sel bulat		
	Eritrosit		
	Lekosit	juta/ml	
	Sel sperma imatur	juta/ml	
	Debris / kristal / lemak		
% Morfo Kepala :	Bakteri / protozoa		
	Noema	56	
	Makro	4	
	Mikro	10	
	Taper	10	
	Piri	2	
	Dobel	-	
	Amorf	12	
	Round	2	
	Pin	4	
	Spermatozoa Morfologi Normal	54	
	Fruktosa :	Glukosidase :	Ac Phos :
	(N ; 13 mikro mol / Ej)	(N : 50 MU / Ej)	(N : 1000 U / ml)
		Mar :	
Kesan :		
Catatan / usul :		
no lab :		
Tanggal		

Mengetahui

Dr. Hudi winarso, Sp. And

Lampiran 4

Hasil analisis spermatozoa *volunteer B*

Nama : B..... Dokter :
 Alamat : Alamat :
 Umur : Diagnosa :

Hasil analisis sperma

Sampel	Abstinensia	hari
Fisik	Tempat sperma	(1) gelas (2) plastik
	Cara pengeluaran	(1) mast (2) CI (3) vibr
	Lengkap	(1) ya (2) tidak
	Bau	(1) khas (2) amis (3) busuk
	Warna	(1) putih (2) kuning (3) jernih
	Viskositas	Detik
Kwant	Likwifaksi sempurna setelah	Menit
	pH	7.0
	Volume	MI 4.0
Motil %	Jumlah sperma Perlaop Pandang (400X)	
	Konsentrasi spermatozoa	juta/ml 32.8
	Jumlah total spermatozoa	juta/ejakulat
	Diperiksa Menit setelah ejakulasi	
	a. sangat baik	a. -
	b. baik	b. 50
c. kurang baik	c. 10	
d. tidak bergerak	d. 40	
	Motilitas total	
Prep Basah :	Viabelitas %	
	Aglutinasi	(Negatif (2) Pos HH/HT/TT/Camp
	Sel bulat	
	Eritrosit	
	Lekosit	juta/ml
	Sel sperma imatur	juta/ml
% Morfo Kepala	Debris / kristal / lemak	
	Bakteri / protozoa	
	Noema	62
	Makro	- Akrosom normal
	Mikro	8 Midpiece AB
	Taper	12 Sitopl Droplet
Piri	6 Tail, dobel	
Dobel	4 Coiled	
Amorf	8 Bend	
Round	-	
Pin	-	
Spermatozoa Morfologi Normal	54	
Fruktosa :	Glukosidase :	Ac Phos :
(N ; 13 mikro mol / Ej)	(N : 50 MU / Ej)	(N : 1000 U / ml)
		Mar :
Kesan :	
Catatan / usul :	
no lab :		
Tanggal		

Mengetahui

Dr. Hudi winarso, Sp. And

Lampiran 5

Hasil analisis spermatozoa *volunteer C*

Nama : C Dokter :
 Alamat : Alamat :
 Umur : Diagnosa :

Hasil analisis sperma

Sampel	Abstinensia	hari
Fisik	Tempat sperma	(1) gelas (2) plastik
	Cara pengeluaran	(1) mast (2) CI (3) vibr
	Lengkap	(1) ya (2) tidak
	Bau	(1) khas (2) amis (3) busuk
	Warna	(1) putih (2) kuning (3) jernih
	Viskositas	Detik
Kwant	Likwifaksi sempurna setelah	Menit
	pH	7.2
	Volume	MI 2.2
Motil %	Jumlah sperma Perlaop Pandang (400X)	
	Konsentrasi spermatozoa	juta/ml 50.2
	Jumlah total spermatozoa	juta/ejakulat
	Diperiksa Menit setelah ejakulasi	
	a. sangat baik	a. 20
	b. baik	b. 30
c. kurang baik	c. 10	
d. tidak bergerak	d. 40	
	Motilitas total	
Prep Basah :	Viabelitas %	
	Aglutinasi	(Negatif (2) Pos HH/HT/TT/Camp
	Sel bulat	
	Eritrosit	
	Lekosit	juta/ml
	Sel sperma imatur	juta/ml
% Morfo Kepala	Debris / kristal / lemak	
	Bakteri / protozoa	
	Noema	58
	Makro	- Akrosom normal
	Mikro	10 Midpiece AB : 4
	Taper	14 Sitopl Droplet : 2
Piri	10 Tail, dobel	
Dobel	- Coiled	
Amorf	2 Bend	
Round	2	
Pin	4	
Spermatozoa Morfologi Normal	52	
Fruktosa :	Glukosidase :	Ac Phos :
(N ; 13 mikro mol / Ej)	(N : 50 MU / Ej)	(N : 1000 U / ml)
		Mar :
Kesan :	
Catatan / usul :	
no lab :	
Tanggal	

Mengetahui


 Dr. Hudi winarso, Sp. And

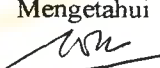
Lampiran 6

Hasil analisis spermatozoa *volunteer D*

Nama : D..... Dokter :
 Alamat : Alamat :
 Umur : Diagnosa :

Hasil analisis sperma

Sampel	Abstinensia	hari
Fisik	Tempat sperma	(1) gelas (2) plastik
	Cara pengeluaran	(1) mast (2) CI (3) vibr
	Lengkap	(1) ya (2) tidak
	Bau	(1) khas (2) amis (3) busuk
	Warna	(1) putih (2) kuning (3) jernih
Kwant	Viskositas	Detik
	Likwifaksi sempurna setelah	Menit
Motil %	pH	7.0
	Volume	MI 4.0
Prep Basah :	Jumlah sperma Perlaop Pandang (400X)	
	Konsentrasi spermatozoa	juta/ml 32.8
	Jumlah total spermatozoa	juta/ejakulat
	Diperiksa Menit setelah ejakulasi	
	a. sangat baik	a. -
b. baik	b. 50	
c. kurang baik	c. 20	
d. tidak bergerak	d. 30	
	Motilitas total	
% Morfo Kepala	Viabelitas %	
	Aglutinasi	(Negatif (2) Pos HH/HT/TT/Camp
	Sel bulat	
	Eritrosit	
	Lekosit	juta/ml
Spermatozoa Morfologi Normal	Sel sperma imatur	juta/ml
	Debris / kristal / lemak	
	Bakteri / protozoa	
	Noema	60
	Makro	2 Akrosom normal
Mikro	6 Midpiece AB	
Taper	6 Sitopl Droplet	
Piri	12 Tail, dobel	
Dobel	2 Coiled	
Amorf	10 Bend	
Round	-	
Pin	2	
Spermatozoa Morfologi Normal	54	
Fruktosa :	Glukosidase :	Ac Phos :
(N ; 13 mikro mol / Ej)	(N : 50 MU / Ej)	(N : 1000 U / ml)
		Mar :
Kesan :	
Catatan / usul :	
no lab :	
Tanggal	

Mengetahui

 Dr. Hudi winarso, Sp. And

Lampiran 7

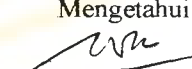
Hasil analisis spermatozoa volunteer E

Nama : E..... Dokter :
 Alamat : Alamat :
 Umur : Diagnosa :

Hasil analisis sperma

Sampel	Abstinensia	hari
Fisik	Tempat sperma	(1) gelas (2) plastik
	Cara pengeluaran	(1) mast (2) CI (3) vibr
	Lengkap	(1) ya (2) tidak
	Bau	(1) khas (2) amis (3) busuk
	Warna	(1) putih (2) kuning (3) jernih
	Viskositas	2.0 Detik
Kwant	Likwifaksi sempurna setelah	Menit _____
	pH	_____
	Volume	MI _____
Motil %	Jumlah sperma Perlaop Pandang (400X)	
	Konsentrasi spermatozoa	juta/ml
	Jumlah total spermatozoa	juta/ejakulat
	Diperiksa Menit setelah ejakulasi	
	a. sangat baik	a. 10
b. baik	b. 50	
c. kurang baik	c. 10	
d. tidak bergerak	d. 30	
	Motilitas total _____	
Prep Basah :	Viabelitas %	
	Aglutinasi	(Negatif (2) Pos HH/HT/TT/Camp
	Sei bulat	
	Eritrosit	
	Lekosit	juta/ml
% Morfo Kepala	Sel sperma imatur	juta/ml
	Debris / kristal / lemak	
	Bakteri / protozoa	
	Noema	62
	Makro	4 Akrosom normal :
Mikro	2 Midpiace AB : -	
Taper	- Sitopl Droplet : 2	
Piri	16 Tail, dobel :	
Dobel	- Coiled : -	
Amorf	12 Bend : 2	
Round	-	
Pin	4	
Spermatozoa Morfologi Normal	54	
Fruktosa :	Glukosidase :	Ac Phos :
(N ; 13 mikro mol / Ej)	(N : 50 MU / Ej)	(N : 1000 U / ml)
		Mar :
Kesan :	_____	
Catatan / usul :	
no lab :		
Tanggal		

Mengetahui


 Dr. Hudi winarso, Sp. And

Lampiran 8

Hasil analisis spermatozoa volunteer F

Nama : F..... Dokter :
 Alamat : Alamat :
 Umur : Diagnosa :

Hasil analisis sperma

Sampel	:	Abstinensia	hari
Fisik	:	Tempat sperma	(1) gelas (2) plastik
	:	Cara pengeluaran	(1) mast (2) CI (3) vibr
	:	Lengkap	(1) ya (2) tidak
	:	Bau	(1) khas (2) amis (3) busuk
	:	Warna	(1) putih (2) kuning (3) jernih
	:	Viskositas	Detik
Kwant	:	Likwifaksi sempurna setelah	Menit _____
	:	pH	_____
	:	Volume	MI _____
Motil %	:	Jumlah sperma Perlaop Pandang (400X)	
	:	Konsentrasi spermatozoa	juta/ml
	:	Jumlah total spermatozoa	juta/ejakulat
	:	Diperiksa Menit setelah ejakulasi	
	:	a. sangat baik	a.20
	:	b. baik	b.30
:	c. kurang baik	c.10	
:	d. tidak bergerak	d. 40	
		Motilitas total	=====
Prep Basah :	:	Viabelitas %	
	:	Aglutinasi (Negatif (2) Pos HH/HT/TT/Camp	
	:	Sel bulat	
	:	Eritrosit	
	:	Lekosit	juta/ml
	:	Sel sperma imatur	juta/ml
% Morfo Kepala	:	Debris / kristal / lemak	
	:	Bakteri / protozoa	
	:	Noema	70
	:	Makro	6 Akrosom normal :
	:	Mikro	2 Midpiace AB : 2
	:	Taper	14 Sitopl Droplet : 2
	:	Piri	4 Tail, dobel :
	:	Dobel	- Coiled : 2
	:	Amorf	4 Bend : -
	:	Round	2
:	Pin	-	
Spermatozoa Morfologi Normal	:	54	
Fruktosa :	Glukosidase :	Ac Phos :	
(N ; 13 mikro mol / Ej)	(N : 50 MU / Ej)	(N : 1000 U / ml)	
		Mar :	
Kesan :	_____		
Catatan / usul :	_____		
no lab :			
Tanggal			

Mengetahui

Dr. Hudi winarso, Sp. And

Lampiran 9

Hasil analisis spermatozoa *volunteer G*

Nama : G..... Dokter :
 Alamat : Alamat :
 Umur : Diagnosa :

Hasil analisis sperma

Sampel	:	Abstinensia	hari	
Fisik	:	Tempat sperma	(1) gelas (2) plastik	
	:	Cara pengeluaran	(1) mast (2) CI (3) vibr	
	:	Lengkap	(1) ya (2) tidak	
	:	Bau	(1) khas (2) amis (3) busuk	
	:	Warna	(1) putih (2) kuning (3) jernih	
Kwant	:	Viskositas	Detik	
	:	Likwifaksi sempurna setelah	Menit	
	:	pH		
Motil %	:	Volume	MI	
	:	Jumlah sperma Perlaop Pandang (400X)		
	:	Konsentrasi spermatozoa	juta/ml	
	:	Jumlah total spermatozoa	juta/ejakulat	
	:	Diperiksa Menit setelah ejakulasi		
% Morfo Kepala	:	a. sangat baik	a.10	
	:	b. baik	b.50	
	:	c. kurang baik	c.10	
	:	d. tidak bergerak	d.30	
	:		Motilitas total	
	Prep Basah :	:	Viabelitas %	
		:	Aglutinasi (Negatif (2) Pos HH/HT/TT/Camp)	
		:	Sel bulat	
		:	Eritrosit	
		:	Lekosit	juta/ml
:		Sel sperma imatur	juta/ml	
:		Debris / kristal / lemak		
Spermatozoa Morfologi Normal	:	Bakteri / protozoa		
	:	Noema	68	
	:	Makro	10	
	:	Mikro	-	
	:	Taper	12	
	:	Piri	4	
	:	Dobel	2	
	:	Amorf	4	
	:	Round	-	
	:	Pin	4	
Fruktosa :	:	Akrosom normal	:	
	:	Midpiace AB	:-	
	:	Sitopl Droplet	: 4	
Glukosidase :	:	Tail, dobel	:-	
	:	Coiled	:-	
	:	Bend	:-	
Ac Phos :	:	Spermatozoa Morfologi Normal	54	
	:	Fruktosa :	(N ; 13 mikro mol / Ej)	
	:	Glukosidase :	(N : 50 MU / Ej)	
Mar :	:	Ac Phos :	(N : 1000 U / ml)	
	:	Mar :	
Kesan :	:			
Catatan / usul :	:			
no lab :	:			
Tanggal	:			

Mengetahui



Dr. Hudi winarso, Sp. And

Lampiran 10

Hasil analisis spermatozoa *volunteer H*

Nama : H..... Dokter :
 Alamat : Alamat :
 Umur : Diagnosa :

Hasil analisis sperma

Sampel	: Abstinensia	hari
Fisik	Tempat sperma	(1) gelas (2) plastik
	Cara pengeluaran	(1) mast (2) CI (3) vibr
	Lengkap	(1) ya (2) tidak
	Bau	(1) khas (2) amis (3) busuk
	Warna	(1) putih (2) kuning (3) jernih
	Viskositas	Detik
Kwant	Likwifaksi sempurna setelah	Menit _____
	pH	_____
	Volume	MI
Motil %	Jumlah sperma Perlaop Pandang (400X)	
	Konsentrasi spermatozoa	juta/ml
	Jumlah total spermatozoa	juta/ejakulat
	Diperiksa Menit setelah ejakulasi	
	a. sangat baik	a. 10
	b. baik	b. 50
c. kurang baik	c. 10	
d. tidak bergerak	d. 40	
	Motilitas total	=====
Prep Basah :	Viabelitas %	
	Aglutinasi	(Negatif (2) Pos HH/HT/TT/Camp
	Sel bulat	
	Eritrosit	
	Lekosit	juta/ml
	Sel sperma imatur	juta/ml
% Morfo Kepala	Debris / kristal / lemak	
	Bakteri / protozoa	
	Noema	60
	Makro	4 Akrosom normal :
	Mikro	4 Midpiace AB : -
	Taper	10 Sitopl Droplet : -
	Piri	10 Tail, dobel : :
	Dobel	2 Coiled : -
	Amorf	10 Bend : 4
	Round	-
Pin	2	
Spermatozoa Morfologi Normal	54	
Fruktosa :	Glukosidase :	Ac Phos :
(N ; 13 mikro mol / Ej)	(N : 50 MU / Ej)	(N : 1000 U / ml)
		Mar :
Kesan : _____		
Catatan / usul :		
no lab :		
Tanggal		

Mengetahui


 Dr. Hudi winarso, Sp. And

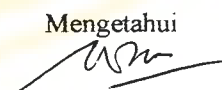
Lampiran 11

Hasil analisis spermatozoa *volunteer I*

Nama : I..... Dokter :
 Alamat : Alamat :
 Umur : Diagnosa :

Hasil analisis sperma

Sampel	:	Abstinensia	hari
Fisik	:	Tempat sperma	(1) gelas (2) plastik
		Cara pengeluaran	(1) mast (2) CI (3) vibr
		Lengkap	(1) ya (2) tidak
		Bau	(1) khas (2) amis (3) busuk
		Warna	(1) putih (2) kuning (3) jernih
		Viskositas	Detik
Kwant	:	Likwifaksi sempurna setelah	Menit _____
		pH	_____
		Volume	MI
Motil %	:	Jumlah sperma Perlaop Pandang (400X)	
		Konsentrasi spermatozoa	juta/ml
		Jumlah total spermatozoa	juta/ejakulat
		Diperiksa Menit setelah ejakulasi	
		a. sangat baik	a. -
		b. baik	b.50
	c. kurang baik	c.20	
	d. tidak bergerak	d.30	
		Motilitas total	=====
Prep Basah :	:	Viabelitas %	
		Aglutinasi (Negatif (2) Pos HH/HT/TT/Camp	
		Sel bulat	
		Eritrosit	
		Lekosit	juta/ml
		Sel sperma imatur	juta/ml
% Morfo Kepala	:	Debris / kristal / lemak	
		Bakteri / protozoa	
		Noema	62
		Makro	- Akrosom normal :
		Mikro	10 Midpiace AB : -
		Taper	10 Sitopl Droplet : 2
		Piri	10 Tail, dobel :
		Dobel	4 Coiled : 2
		Amorf	4 Bend : 4
		Round	-
	Pin	-	
Spermatozoa Morfologi Normal	:	54	
Fruktosa :	Glukosidase :	Ac Phos :	
(N ; 13 mikro mol / Ej)	(N : 50 MU / Ej)	(N : 1000 U / ml)	
		Mar :	
Kesan :	_____		
Catatan / usul :	_____		
no lab :			
Tanggal			

Mengetahui

 Dr. Hudi winarso, Sp. And

Lampiran 12

Hasil analisis spermatozoa *volunteer J*

Nama : J..... Dokter :
 Alamat : Alamat :
 Umur : Diagnosa :

Hasil analisis sperma

Sampel	:	Abstinensia	hari
Fisik	:	Tempat sperma	(1) gelas (2) plastik
	:	Cara pengeluaran	(1) mast (2) CI (3) vibr
	:	Lengkap	(1) ya (2) tidak
	:	Bau	(1) khas (2) amis (3) busuk
	:	Warna	(1) putih (2) kuning (3) jernih
	:	Viskositas	Detik
	:	Likwifaksi sempurna setelah	Menit _____
	:	pH	_____
Kwant	:	Volume	MI
Motil %	:	Jumlah sperma Perlaop Pandang (400X)	
	:	Konsentrasi spermatozoa	juta/ml
	:	Jumlah total spermatozoa	juta/ejakulat
	:	Diperiksa Menit setelah ejakulasi	
	:	a. sangat baik	a. -
	:	b. baik	b.50
	:	c. kurang baik	c.25
	:	d. tidak bergerak	d.35
	:		Motilitas total _____
Prep Basah :	:	Viabelitas %	
	:	Aglutinasi (Negatif (2) Pos HH/HT/TT/Camp	
	:	Sel bulat	
	:	Eritrosit	
	:	Lekosit	juta/ml
	:	Sel sperma imatur	juta/ml
	:	Debris / kristal / lemak	
	:	Bakteri / protozoa	
% Morfo Kepala	:	Noema	60
	:	Makro	- Akrosom normal
	:	Mikro	- Midpiace AB
	:	Taper	18 Sitopl Droplet
	:	Piri	12 Tail, dobel
	:	Dobel	- Coiled : 4
	:	Amorf	4 Bend : -
	:	Round	4
	:	Pin	2
Spermatozoa Morfologi Normal	:		54
Fruktosa :	:	Glukosidase :	Ac Phos :
(N ; 13 mikro mol / Ej)	:	(N : 50 MU / Ej)	(N : 1000 U / ml)
	:		Mar :
Kesan :	:		
Catatan / usul :	:		
no lab :	:		
Tanggal	:		

Mengetahui

Dr. Hudi winarso, Sp. And