

## RINGKASAN

### **PENGARUH FASE AIR DAUN *Justicia gendarussa* Burm.f. TERHADAP AKTIVITAS ENZIM HIALURONIDASE SPERMATOZOA KELINCI *IN VIVO***

Wuri Dianasari

Proses fertilisasi dapat terjadi apabila spermatozoa dapat menembus tiga lapisan sel telur yang masing-masing urutannya dari luar ke dalam adalah lapisan kumulus ooforus, korona radiata, dan zona pelusida. Untuk dapat menembus ketiga lapisan sel telur tersebut, spermatozoa mensekresi enzim spesifik, yaitu hialuronidase, Corona Penetration Enzyme (CPE), dan akrosin yang ketiganya berada pada bagian kepala spermatozoa (akrosom). Hialuronidase berperan untuk penetrasi kumulus ooforus dengan menghidrolisis asam hialuronat yang berfungsi sebagai perekat sel-sel penyusun matriks kumulus ooforus, CPE untuk penetrasi korona radiata, sedangkan akrosin untuk penetrasi zona pelusida. Adapun kerja ketiga enzim ini terjadi secara spesifik dan berurutan, jadi apabila hialuronidase telah bekerja menghidrolisis kumulus ooforus, maka enzim berikutnya akan disekresi. Sebaliknya apabila hialuronidase dihambat, maka akan terjadi penurunan kemampuan mendispersi kumulus ooforus sehingga pada akhirnya tidak terjadi penetrasi ke dalam kumulus ooforus.

Tanaman *Justicia gendarussa* Burm.f. memiliki kandungan flavonoid yang disebut gandarusin A (6,8-di- $\alpha$ -L-arabinosil-4',5,7-trihidroksi flavon) dan gandarusin B (6- $\alpha$ -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-8- $\beta$ -D-silosilapigenin) (Prayogo, 2002). Di antara senyawa gandarusin yang terdapat dalam *Justicia gendarussa* Burm.f., kandungan kimia utama yang akan dimanfaatkan adalah gandarusin A, karena gandarusin A dapat menyebabkan antifertilitas yaitu dengan mencegah penetrasi spermatozoa dengan menurunkan aktivitas enzim hialuronidase spermatozoa.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh fase air daun *Justicia gendarussa* Burm.f. terhadap aktivitas enzim hialuronidase spermatozoa kelinci *in vivo*. Banyak metode dikembangkan untuk menentukan aktivitas enzim hialuronidase. Salah satu metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode lempeng mikro. Aktivitas hialuronidase dapat diketahui dari kadar asam hialuronat sisa yang tidak terhidrolisis oleh hialuronidase dengan metode lempeng mikro. Metode ini memiliki beberapa kelebihan, antara lain memiliki sensitivitas yang tinggi, praktis, waktu analisis cepat 96 sampel dapat dianalisa dalam satu waktu dan memerlukan jumlah substrat serta sampel enzim sedikit. Pada metode ini asam hialuronat disuspensikan dalam agarosa dengan konsentrasi masing-masing 0,8 mg/ml dan 0,8%. Suspensi tersebut diisikan dalam masing-masing lubang lempeng mikro sebanyak 100  $\mu$ l. Kemudian sampel enzim yang sudah dipreparasi dimasukkan dalam lubang lempeng mikro yang telah berisi campuran tersebut, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 17 jam. Setelah diinkubasi keluarkan sampel enzim kemudian masukkan setilpiridinium klorida 10% pada

masing-masing lubang sebanyak 100  $\mu$ l, inkubasi selama 30 menit pada suhu kamar kemudian diamati absorbansinya pada  $\lambda$  595 nm dengan plate reader.

Aktivitas hialuronidase dapat diketahui dari kadar asam hialuronat sisa yang tidak terhidrolisa oleh hialuronidase mengendap setelah diberi setilpiridinium klorida yang memberikan absorbansi pada  $\lambda$  595 nm. Setelah itu akan didapat data pengukuran absorbansi asam hialuronat pada berbagai rentang kadar, sehingga menjadi persamaan regresi linier  $y = bx + a$  dengan  $y$  sebagai absorbansi asam hialuronat dan  $x$  sebagai kadar asam hialuronat. Kadar asam hialuronat sisa yang tidak terhidrolisa oleh enzim hialuronidase dapat diketahui dengan memasukkan data absorbansi masing-masing kelompok perlakuan pada persamaan regresi tersebut. Aktivitas hialuronidase dapat dinyatakan dalam unit yaitu enzim yang mengkatalisa pembentukan satu mikromol produk permenit. Aktivitas spesifik hialuronidase spermatozoa kelinci dapat diketahui dari aktivitas katalitik per milligram protein. Kadar protein dalam sampel tersebut dapat diketahui dengan membandingkan kadar Bovine Serum Albumin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas katalitik rata-rata enzim hialuronidase spermatozoa kelinci pada pemberian fase air gandarussa dengan dosis 1 ( 580mg/ kg BB ), dosis 2 ( 490 mg/kg BB ), dosis 3 ( 350 mg/kg BB ), masing-masing adalah  $0,791.10^{-6}$  unit,  $2,268.10^{-6}$  unit dan  $2,603.10^{-6}$  unit, sedangkan aktivitas katalitik rata-rata enzim hialuronidase spermatozoa dengan kontrol positif (pemberian hesperidin) adalah  $0,804.10^{-6}$  unit dan kontrol negatif (pemberian aquadest) adalah  $3,102.10^{-6}$  unit. Aktivitas spesifik rata-rata enzim hialuronidase spermatozoa kelinci setelah pemberian fase air gandarussa seperti dosis diatas, masing-masing adalah  $0,185.10^{-7}$  unit/mg;  $0,440.10^{-7}$  unit/mg dan  $0,545.10^{-7}$ unit/mg. Sedangkan aktivitas spesifik rata-rata enzim hialuronidase spermatozoa dengan kontrol positif (pemberian hesperidin) adalah  $0,291.10^{-7}$  unit/mgdan kontrol negatif (pemberian aquadest) adalah  $1,430.10^{-7}$  unit/mg.

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa terdapat penurunan aktivitas hialuronidase spermatozoa kelinci setelah pemberian fase air gandarussa dengan dosis 1 ( 580 mg/ kg BB ), dosis 2 ( 490 mg/kg BB ), dosis 3 ( 350 mg/kg BB ) peroral dibandingkan kontrol tanpa pemberian fase air gandarussa.

Berdasarkan penelitian ini, disarankan adanya penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan dosis fase air gandarussa yang optimal dalam menghambat aktivitas hialuronidase spermatozoa *in vivo*.

**ABSTRACT****THE EFFECT OF WATER PHASE OF *Justicia gendarussa* Burm.f. LEAVES TO THE SPERMATOZOA HYALURONIDASE ENZYME ACTIVITIES OF RABBIT *IN VIVO***

*Justicia gendarussa* Burm.f. contains gandarusin A a flavonoid that has antifertility action, that is preventing spermatozoa penetrations by slowing down hyaluronidase enzyme activity of spermatozoa. Hyaluronidase has a role to the penetration of cumulus ooforus by hydrolyzing hyaluronic acid in the fertilization process. If hyaluronidase activity is inhibited, there will be decrease activity of cumulus ooforus dispersion; finally, there is no penetration in the cumulus ooforus. The goal of this research is to know the effect of water phase of *Justicia gendarussa* Burm.f. leaves to the spermatozoa hyaluronidase enzyme activities of rabbit *in vivo*. The method used was microplate assay. Hyaluronidase activities can be detected from residues of hyaluronic acid that were not hydrolyzed by hyaluronidase and sedimented by cetylpyridinium chloride that gave the absorbance in the  $\lambda$  595 nm with microplate reader. The study showed decrease spermatozoa hyaluronidase activity of rabbit after gandarussa water phase per oral, compared with the control (without gandarussa water phase). The spermatozoa hyaluronidase activity of the rabbit given gandarussa water phase with the first dose 580 mg/kg BB is  $0.791 \times 10^{-6}$  units, with the second dose 490 mg/kg BB is  $2.268 \times 10^{-6}$  units, with the third dose 350 mg/kg BB is  $2.603 \times 10^{-6}$  units, while spermatozoa hyaluronidase enzyme rates activities with positive control (with hesperidin) is  $0.804 \times 10^{-6}$  units and negative control (with aquadest) is  $3.102 \times 10^{-6}$  units.

Keywords : *Justicia gendarussa* Burm.f, hyaluronidase enzyme, rabbit, microplate methods.