

Artikel Penelitian

Efektivitas Ekstrak Rimpang Pacing (*Costus speciosus*), Daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) dan Ekstrak Kombinasinya Terhadap Penurunan Jumlah Folikel Tersier dan Folikel De Graff Pada Mencit Betina (*Mus musculus*)

Purity Sabila Ajiningrum.^{1*}, Susie Amilah.², Prafikka Galuh Widyaningtyas³

¹ Staf Pengajar Prodi Biologi FMIPA Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

² Dosen Prodi Biologi FMIPA Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

³ Mahasiswa Prodi Biologi FMIPA Universitas PGRI Adi Buana Surabaya

*) E-mail: (puritysabila@unipasby.ac.id.)

ABSTRAK

Salah satu cara menanggulangi pertumbuhan penduduk yang tidak terkendali adalah dengan penggunaan kontrasepsi melalui program Keluarga Berencana (KB). Kontrasepsi yang beredar kebanyakan merupakan kontrasepsi sintetis yang memiliki risiko terhadap kesehatan pemakainya. Kontrasepsi lain yang dapat digunakan sebagai alternative dengan efek samping tidak berbahaya yaitu memanfaatkan tanaman obat yang mengandung senyawa antifertilitas. Beberapa tanaman yang mengandung senyawa antifertilitas yaitu srikaya (*Annona squamosa* L.) dan pacing (*Costus speciosus* (Koen.)). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak rimpang pacing, ekstrak daun srikaya dan ekstrak kombinasinya terhadap jumlah folikel tersier dan folikel de graff pada mencit betina. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental menggunakan Metode analisis uji F (anova) satu arah dengan percobaan rancangan acak lengkap (RAL). Penurunan jumlah folikel tersier terbaik adalah pada pemberian ekstrak daun srikaya pada dosis 250 mg/kg BB. Pada folikel de graff, paling efektif adalah pada pemberian ekstrak daun srikaya dosis 250 mg/kg BB dan pemberian ekstrak kombinasi ekstrak rimpang pacing dan daun srikaya yaitu pada pemberian dosis 125:125 mg/kg BB. Penurunan jumlah folikel tersier dan folikel de graff juga dapat disebabkan karena adanya kandungan bahan aktif yang ada didalam rimpang pacing dan daun srikaya. Penurunan jumlah folikel pada tiap-tiap perlakuan juga dipengaruhi banyaknya dosis yang diberikan sehingga semakin banyak jumlah dosis yang diberikan, maka semakin sedikit jumlah folikel yang terbentuk.

Kata kunci : antifertilitas, folikel de graff, folikel tersier, ekstrak rimpang pacing, ekstrak daun srikaya

The Effectivity of Pacing Rhizome Extract (*Costus speciosus*), Srikaya Leaves Extract (*Annona squamosa* L.) and Its Combination on the Decrease of Tertiary and de Graff Follicles Number of Female Mice (*Mus Musculus*)

ABSTRACT

One way to deal with uncontrolled population growth is by using contraception through the family planning program. the existing contraceptives are mostly synthetic contraceptives that have risks. another alternative that can be used as contraception with harmless side effects is to use medicinal plants that contain antifertility compounds. some plants that contain antifertility compounds are srikaya (*annona squamosa* l.) and pacing (*costus speciosus* (koen.)). this study aims to determine the effect of pacing rhizome extract, srikaya leaf extract and its combination extract on the number of tertiary follicles and de graff follicles in female mice. this is an experimental study using a one-way f (anova) test analysis method with a complete randomized design trial. the best reduction in the number of tertiary follicles and de graff follicles is at a dose of 250 mg/kg and and the combination extract of pacing rhizome extract and srikaya leaf are at a dose of 125: 125 mg/kg. the decrease in the number of tertiary follicles and de graff follicles can also be caused by the presence of active ingredients in the pacing and srikaya leaves. decreasing the number of follicles in each treatment is also influenced by the dose given, so the more the number of doses given, the less the number of follicles formed.

Keywords: antifertility, de graff follicles, tertiary follicles, pacing rhizome extract, srikaya leaves extract

I. PENDAHULUAN

Pertumbuhan penduduk yang masih tinggi di Indonesia menjadi salah satu ancaman yang harus diperhatikan. Untuk menanggulangi pertumbuhan penduduk tersebut maka diperlukan suatu pengendalian salah satunya dengan penggunaan kontrasepsi melalui program Keluarga Berencana (KB). Kontrasepsi yang beredar kebanyakan merupakan kontrasepsi sintetis yang memiliki risiko terhadap kesehatan pemakainya.

Kontrasepsi sintetis diketahui memiliki efek samping seperti menstruasi yang tidak teratur, alergi, obesitas dan pendarahan diluar siklus menstruasi. Alternatif lain yang dapat digunakan sebagai kontrasepsi dengan efek samping tidak berbahaya yaitu memanfaatkan tanaman obat yang mengandung senyawa antifertilitas. Tanaman obat diketahui memiliki kelebihan yaitu efek sampingnya relatif kecil dan komponen dalam satu bahan memiliki efek yang saling mendukung [1] [2].

Senyawa antifertilitas adalah senyawa yang dapat mencegah kesuburan dengan mengganggu beberapa mekanisme reproduksi normal pada pria maupun wanita [2][3]. Beberapa tanaman yang mengandung senyawa antifertilitas yaitu srikaya (*Annona squamosa* L.) dan pacing (*Costus speciosus* (Koen.). Daun Srikaya dapat digunakan sebagai antiradang, antelmintik, astringen, antifertilitas dan zat pemicu pematangan bisul dan antitumor [4][5]. Hasil skrining fitokimia yang dilakukan oleh penelitian terdahulu (Dewi, 2015) diperoleh hasil bahwa daun pacing mengandung flavonoid, saponin, tannin, steroid, triterpenoid dan glikosida dan hasil pengujian efek antifertilitas ekstrak etanol daun pacing menunjukkan bahwa pada dosis 100 mg/kg BB dan dosis 200 mg/kg BB pemberian ekstrak seminggu sebelum kopulasi dan pada pemberian seminggu sebelum kopulasi sampai seminggu setelah kopulasi memiliki efek antifertilitas [6].

Penelitian terdahulu juga telah membuktikan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak rimpang pacing, ekstrak daun srikaya dan ekstrak kombinasinya terhadap jumlah folikel primer dan sekunder pada mencit. Penurunan jumlah folikel primer dan sekunder terbaik adalah pada pemberian ekstrak Rimpang Pacing dosis 250 mg/kg BB [7]. Maka dari itu, penelitian ini merupakan penelitian lanjutan untuk mengetahui pengaruh ekstrak rimpang pacing dan daun srikaya

terhadap jumlah folikel tersier dan folikel de graaf pada mencit betina.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biologi Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas PGRI Adi Buana Surabaya.

2.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bak plastik, tempat makan dan minum mencit, alat pengecek oral, timbangan analitik, alat destilasi, alat bedah, mikroskop, mikrotom, *cover glass* dan *object glass*. Bahan yang digunakan adalah ekstrak daun srikaya dan ekstrak rimpang pacing, mencit betina, alkohol 80%, etanol 80%, kloroform, kapas dan reagen pewarna untuk histologi.

2.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental menggunakan Metode analisis uji F (ANOVA) satu arah dengan percobaan rancangan acak lengkap (RAL). Untuk membandingkan angka rata-rata dari hasil perlakuan dan menentukan perlakuan mana yang menimbulkan perbedaan nyata di bandingkan dengan perlakuan kontrol maka dilakukan Uji LSD.

2.4. Pengambilan Sampel

2.4.1 Pemberian Ekstrak Rimpang Pacing dan Ekstrak Daun Srikaya

Penelitian ini menggunakan mencit betina sebanyak 45 ekor mencit normal dengan rentang usia 2,5-3 bulan dan berat 25-30 gram. Pemberian dosis ekstrak perlakuan yang digunakan adalah 0 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, 150 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, 250 mg/kg BB dan dosis 0:0 mg/kg BB, 50:50 mg/kg BB, 75:75 mg/kg BB, 100:100 mg/kg BB, 125:125 mg/kg BB. Dosis diberikan yaitu dengan 15 perlakuan meliputi 3 kelompok sebagai kontrol dan 12 kelompok diberi konsentrasi berbagai ekstrak yang diberikan secara oral dengan menggunakan alat pengecek oral (sonde) sebanyak 0,5 ml dan masing-masing perlakuan diulang 3 kali ulangan.

Ekstrak daun srikaya, ekstrak rimpang pacing serta kombinasi keduanya dilarutkan dengan aquades dan didiamkan selama 24 jam. Ekstrak di berikan secara oral dengan menggunakan sonde dengan volume tidak melebihi intragestik mencit (0,5 ml). Ekstrak diberikan pada mencit sebanyak satu kali setiap hari yaitu pagi hari pukul 08.00-12.00 WIB selama 25 hari dengan dosis yang telah dihitung sesuai dengan berat mg/kg BB mencit. Pada hari ke-

26, seluruh mencit dibius dengan eter atau kloroform, dibedah dan diambil ovariumnya untuk dibuat preparat mikroanatomi.

2.4.2 Pembuatan Preparat Histologi Ovarium Mencit

Tahap pertama yaitu ovarium difiksasi pada larutan formalin 10% selama 1 jam, diulang sebanyak 2 kali pada larutan yang berbeda. Setelah melakukan filtrasi di lanjutkan dengan dehidrasi. Tahap kedua yaitu ovarium yang sudah difiksasi kemudian didehidrasi pada larutan etanol 70% selama 1 jam, kemudian dipindahkan pada larutan etanol 80% dan 95% sebanyak 2 kali dan dalam etanol absolut selama 1 jam dan diulang sebanyak 2 kali pada etanol absolut yang berbeda. Setelah didehidrasi dilanjutkan dengan tahap ketiga yaitu proses *clearing* (penjernihan) untuk menarik kadar etanol dengan menggunakan larutan xylene I selama 1,5 jam dan dilanjutkan ke larutan xylene II selama 1,5 jam. Tahap keempat dilanjutkan dengan proses *embedding*. Pada proses ini ovarium dimasukkan ke dalam cetakan dan diinfiltrasi dengan menuangkan paraffin yang dicairkan pada suhu 60°C, kemudian paraffin dibiarkan mengeras dan dimasukkan ke dalam *freezer* selama ± 1 jam. Setelah proses *embedding*, dilanjutkan dengan proses *sectioning* (pemotongan). Ovarium yang sudah mengeras dilepaskan dari cetakan dan dipasang pada mikrotom kemudian dipotong setebal 5 micron dengan pisau mikrotom. Hasil potongan dimasukkan ke dalam water bath bersuhu 40°C untuk merentangkan hasil potongan. Hasil potongan kemudian diambil dengan objek glass dengan posisi tegak lurus dan dikeringkan.

2.4.3 Pewarnaan

Hasil potongan diwarnai dengan Hematoxilin Eosin (pewarna HE) yang dilakukan dengan beberapa tahap yaitu: Tahap pertama merendam preparat dalam larutan xylene I selama 10 menit, kemudian larutan xylene II dan etanol absolute selama 5 menit. Setelah itu rendam dalam larutan etano 96% dan 50% selama 30 detik dan running tap water selama 5 menit. Tahapan dilanjutkan dengan merendam preparat dalam meyer hematoshirin selama 1-5 menit, kemudian rendam lagi dalam running tap water selama 2-3 menit. Selanjutnya preparat direndam dalam pewarna eosin selama 1-5 menit. Lalu dimasukkan lagi

dalam etanol 75% selama 5 detik dan etanol absolut selama 5 detik diulang 3 kali pada etanol absolut yang berbeda. Selanjutnya preparat direndam dalam larutan xylene III selama 5 menit, kemudian dipindahkan dalam xylene IV selama 5 menit dan terakhir dipindahkan ke dalam xylene V selama 10 menit. Preparat diangkat dan dikeringkan dan ditutup menggunakan *deckglass*. Setelah diwarnai proses dilanjutkan dengan *mounting* (perekatan). Sediaan yang telah diwarnai kemudian ditutup pengamatan sediaan dan mikroanatomi ovarium mencit diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali (10 x 40). Parameter yang diamati meliputi jumlah folikel tersier dan folikel de graaf.

1. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan Tabel 1, terjadi penurunan jumlah folikel tersier dan folikel de graff pada 45 mencit yang telah diberi ekstrak rimpang pacing, daun srikaya pada dosis 100 mg/kg BB, 150 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, dan 250 mg/kg BB, sedangkan pada ekstrak kombinasi pada dosis 50:50, 75:75, 100:100, 125:125. Penurunan jumlah folikel tersier terbaik adalah pada pemberian ekstrak daun srikaya pada dosis 250 mg/kg BB. Penurunan jumlah folikel de graff terbaik adalah pada pemberian ekstrak daun srikaya dosis 250 mg/kg BB dan pemberian ekstrak kombinasi antara rimpang pacing dan daun srikaya pada pemberian dosis 125:125 mg/kg BB.

Tabel 1. Rata-rata folikel tersier dan folikel de graff

Jenis Ekstrak	Konsentrasi mg/kg BB	Rata-rata Folikel Tersier	Rata-rata Folikel De Graff
Ekstrak Rimpang Pacing	0	12	4
	100	11	3,33
	150	5	2,33
	200	4	1,66
	250	3,66	1,33
Ekstrak Daun Srikaya	0	12	4
	100	7,66	2,33
	150	6	1,66
	200	3,66	1
	250	3	1
Kombinasi Ekstrak	0	12	4
	50:50	10	2

Rimpang	75:75	7,33	1,66
Pacing dan	100:100	5,33	1
Ekstrak	125:125	5	1
Daun			
Srikaya			

Tabel 2. Analisis Uji Anova Folikel Tersier

ANOVA

Folikel.Tersier

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	477.244	14	34.089	4.620	.000
Within Groups	221.333	30	7.378		
Total	698.578	44			

Tabel 3. Analisis Uji Anova Folikel De Graff

ANOVA

Folikel.De.Graff

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	55.244	14	3.946	2.089	.044
Within Groups	56.667	30	1.889		
Total	111.911	44			

Hasil uji Anova pada tabel 2 dan tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak rimpang pacing, ekstrak daun srikaya dan ekstrak kombinasinya berpengaruh signifikan ($P < 0,05$) terhadap jumlah folikel tersier mencit (*Mus musculus*). Hasil uji beda LSD pengaruh ekstrak rimpang pacing, daun srikaya dan ekstrak kombinasinya menunjukkan signifikan terhadap jumlah folikel tersier dan folikel de graaf pada mencit.

Turunnya jumlah folikel dapat melalui mekanisme penghambatan produksi dan sekresi hormon FSH, LH dan estrogen maupun melalui mekanisme gangguan secara langsung pada sel target yaitu dapat berupa rusaknya membran sel, degenerasi dan apoptosis serta gangguan pada proses pembelahan. Selain itu, penurunan jumlah folikel pada tiap-tiap perlakuan juga dipengaruhi banyaknya dosis yang diberikan. Semakin banyak dosis yang

diberikan, maka semakin sedikit jumlah folikel yang terbentuk. Hal ini juga dibuktikan pada penelitian sebelumnya, bahwa folikel tersier tidak mampu berkembang sampai pada tahap folikel de graff karena disebabkan oleh pemberian dosis yang terlalu besar sehingga menyebabkan ovulasi tidak terjadi [8].

Penurunan jumlah folikel tersier juga dapat disebabkan karena adanya kandungan bahan aktif yang ada didalam rimpang pacing dan daun srikaya. Daun srikaya (*Annona squamosa* L.) mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, steroid dan alkaloid [7][9]. Flavonoid dapat menghambat enzim aromatase yang berfungsi mengkatalisis androgen menjadi estrogen, sehingga ketika enzim aromatase dihambat maka jumlah estrogen meningkat. Konsentrasi estrogen yang meningkat ini akan memberikan efek umpan balik negatif ke hipofisis untuk menekan sekresi FSH dan LH sehingga akan menghambat perkembangan folikel [8][10].

Bahan aktif lain pada daun srikaya yaitu triterpenoid yang dapat menyebabkan terjadinya penurunan jumlah folikel tersier menuju ke folikel de graff. Triterpenoid menyebabkan efek antifertilitas sehingga terjadi gangguan hormonal, yaitu gangguan pada FSH dan LH. Folikel yang tidak berkembang dapat disebabkan karena adanya gangguan pada jalur hipotalamus hipofisa sehingga sekresi GnRH mengalami gangguan dan mempengaruhi pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel [8][11].

Menurunnya jumlah folikel de graff menunjukkan adanya kematian sel-sel granulosa sehingga mengganggu terjadinya proses folikulogenesis yang menyebabkan folikel mengalami atresia dan folikel atresia dapat terjadi di berbagai tahap perkembangan folikel [2][12][13]. Berdasarkan hal tersebut, dapat diasumsikan bahwa penurunan jumlah folikel yang matang diakibatkan karena adanya kandungan ekstrak rimpang pacing dan ekstrak daun srikaya yang menyebabkan terjadinya folikel atresia pada tahap perkembangan folikel, sehingga jumlah folikel de graff mengalami penurunan. Hal ini

4. KESIMPULAN

Ekstrak rimpang pacing, ekstrak daun srikaya dan ekstrak kombinasinya berpengaruh signifikan terhadap jumlah folikel tersier dan folikel de graff pada mencit (*Mus musculus*). Penurunan jumlah folikel tersier terbaik adalah pada pemberian ekstrak

daun srikaya pada dosis 250 mg/kg BB. Penurunan jumlah folikel de graaf terbaik adalah pada pemberian ekstrak daun srikaya dosis 250 mg/kg BB dan pemberian ekstrak kombinasi antara rimpang pacing dan daun srikaya pada pemberian dosis 125:125 mg/kg BB.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada rekan-rekan peneliti atas masukan, saran dan telah bersedia membantu penelitian dan penyusunan jurnal ini.

6. PENDANAAN

Penelitian ini adalah penelitian skema pengembangan yang didanai oleh Universitas PGRI Adi Buana Surabaya melalui Penelitian Hibah Adi Buana tahun 2018/2019.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Katno. Tingkat manfaat, keamanan dan efektifitas tanaman obat dan obat tradisional. Karanganyar: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 2008.
2. Alfian MAJ, Sitaswi AJ, Djaelani MA. Efek antifertilitas ekstrak air biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap jumlah dan diameter folikel de graaf mencit (*Mus musculus*) Betina. Jurnal Pro-Life. 2018; 5(1): 476-486.
3. Dabhadkhar DK, Thakare VG, Zade VS, Charjan AP, Dhore MM, Deosthale SM. Review on some ethnobotanical plants having antifertility activity in female albino rats. Int. Res J. of Science and Engineering. 2015; 3 (2): 43 – 46
4. Djajanegara I, Wahyudi P. Pemakaian sel hela dalam uji sitotoksisitas fraksi kloroform dan etanol ekstrak daun annona squamosa. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2009; 7(1): 7-11.
5. Laili NDH, Nofianti T, Sari FI. Uji antifertilitas ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap mencit putih betina bunting galur swiss webster. Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada. 2016; 15 (1): 51-55.
6. Dewi N. P. Uji efek antifertilitas ekstrak etanol daun pacing (*Cheilocostus speciosus* (J. Koenig) C.D. Specht) pada mencit betina (skripsi). Universitas Sumatera Utara; 2015.
7. Ajiningrum PS, Amilah S, Widyaningtyas PG. Potensi Ekstrak Rimpang Pacing (*Costus speciosus*), Daun Srikaya (*Annona squamosa* L.) dan Kombinasinya Terhadap Jumlah Folikel Primer dan Sekunder Pada Mencit Betina (*Mus musculus*). Prosiding Sminar Nasional Hasil Riset dan Pengabdian II; 18 Oktober 2019; Surabaya, Indonesia. Indonesia: Universitas PGRI Adi Buana Surabaya; 2019.
8. Hasfita Y. Pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) urban) dosis tinggi terhadap histologi dan berat ovarium mencit (*Mus musculus*) betina (skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang; 2013.
9. Rusmiati. Pengaruh ekstrak metanol kulit kayu durian (*Durio zibethius* murr) pada struktur mikroanatomi ovarium dan uterus mencit (*Mus musculus* L) Betina. Jurnal Sains dan Terapan Kimia. 2010; 4 (1): 29-37
10. Adimunca C. Kemungkinan pemanfaatan ekstrak buah pare sebagai bahan kontrasepsi pria. Jurnal Cermin Dunia Kedokteran. 1996; 112:12-14.
11. Limbong T. Pengaruh ekstrak ethanol kulit batang pakettu (*Ficus superba* Miq) terhadap folikulogenesis ovarium mencit (*Mus musculus*) (tesis). Universitas Airlangga Surabaya; 2003.
12. Bender DA. Free Radicals an Antioxidant Nutrients. New York: Mc Graw Hill Lange, 2009.
13. Tilly JL, Tilly KL. Inhibitors of Oxidative Stress Mimic the Ability of Follicle-Stimulating Hormone to Suppress Apoptosis in Cultured Rat Ovarian Follicles. Endocrinology. 1995; 136 (1): 242-252.