

Perubahan Histologis Uterus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar: Aktifitas Antifertilitas Ekstrak Kulit Biji Mete (*Anacardium occidentale* L.)

HARLITA, RIEZKY MAYA PROBOSARI, JOKO ARIYANTO

P. Biologi PMIPA FKIP UNS

*email: lita_uns@yahoo.co.id

Manuscript received: 11 Mei 2015 Revision accepted: 28 Juli 2015

ABSTRACT

On the issue of distribution of teachers, for example, we have not been able to spread evenly elementary teachers in remote homeland. In fact, the number of primary school teachers as a whole are not including less. As a result, there was a shortage of teachers locally everywhere, especially in the small, difficult and remote. On the issue of disparity in quality, basil learn the average elementary school student in the big cities are generally much higher than their counterparts in remote areas. Perhaps a more appropriate blamed is because we have not found the proper techniques to perform Duplicate Classroom Management (PKR). Understanding the nature or essence of PKR, PKR is expected to no longer regard as a difficult problem to overcome. In contrast, the self will grow understanding that PKR is a definite challenge to overcome. The purpose of this study was to determine how the management class for Elementary School Teachers Experiencing Shortage of the Frontier or Remote province of East Kalimantan that occurred during this time, to find out what happened to the problem of learning patterns that have been implemented in elementary schools Experiencing Shortage Teachers in the Frontier or Remote East Kalimantan Province and develop a model to solve the problems that occurred in the study that had been conducted at the Primary School Teachers Experiencing Shortage of the Frontier or Remote Kalimantan Timur. Model development modeled after Dick & Carey with steps to identify learning objectives, learning analysis, analysis of student characteristics, formulate learning indicators, developing test items, develop learning strategies, developing and selecting materials, designing formative evaluation and revise teaching materials. Classroom management model appropriate to deal with problems in elementary Sebatik Island due to shortage of teachers is classroom management model in the sense that 221 teachers teach two classes, two subjects in the same room. This model is considered to be appropriate to the circumstances on the island of Sebatik who have never applied for duplicate classroom management model management model 221 is a model of the simplest of the three models in the management of dual class.

Keywords: kulit biji mete, histologis uterus, tikus putih

LATAR BELAKANG

Konsep pengaturan fertilitas bukan merupakan hal yang baru. Sejumlah tumbuhan maupun ekstrak tumbuhan telah digunakan sebagai agen antifertilitas secara turun temurun. Banyak tumbuhan digunakan sebagai kontrasepsi (mencegah ovulasi atau fertilisasi), abortifasien (mencegah implantasi) dan oksitosi (merangsang kontraksi uterus). Tumbuhan atau ekstrak tumbuhan yang berpotensi sebagai aborsi, kontrasepsi, abortifasien dan sterilisasi dikenal sebagai agen antifertilitas (Kumar *et al.*, 2012). Mete (*Anacardium occidentale* L.) merupakan salah satu tanaman tropis yang berasal dari Brazilia, Amerika Selatan. Tanaman ini disebarkan oleh pedagang Portugis ke daerah lain, pada awal abad ke 16 misalnya India, Afrika dan Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Lilia, *et al.*, 1991). Pembudidayaan tanaman mete yang mempunyai nilai ekonomi yang tinggi akan mengeluarkan limbah kulit biji mete. Kulit biji mete yang dianggap sebagai limbah ternyata mengandung 30% *Cashew Nut Shell Liquid* (CNSL) atau minyak laka (Lilia *et al.*, 1991). Minyak laka (CNSL) merupakan senyawa fenolik (Konan *et al.*, 2007). Hasil ekstraksi CNSL mengandung 80% asam anakardat, 15% kardol dan sejumlah kecil derivat kardol yakni metil kardol dan kardanol (Sullivan *et al.*,

1982; Simpen, 2008). Berbagai efek asam anakardat telah dilaporkan, antara lain sebagai bakterisidal, fungisidal mematikan cacing dan protozoa (Kubo *et al.* 1993). Asam anakardat juga mempunyai aktifitas antifertilitas dan anti implantasi. Prasad *et al.* (2007) meneliti pada tikus menunjukkan bahwa pemberian *anacardic acid methyl ester in presence of oil* (AAMEO) mempunyai aktifitas antiimplantasi 81,3% dan antifertilitas 60%. *Anacardic acid methyl ester in presence of ethanol* (AAMEE) mempunyai aktifitas antiimplantasi 37% dan antifertilitas 20%.

Harlita, dkk. (2013) meneliti ekstrak kulit biji mete mempengaruhi ketebalan lapisan endometrium tikus albino. Penelitian Harlita dkk (2015) bahwa ekstrak kulit biji mete mempengaruhi kadar hormon progesteron tikus putih. Progesteron merupakan hormone yang mempengaruhi

Siklus estrus merupakan perubahan hormonal yang terjadi pada ovarium. Pada tikus terdiri dari 4 fase utama, yaitu proestrus, estrus, metestrus dan diestrus (Taylor, 1994). Siklus ini dapat dengan mudah diamati dengan melihat perubahan sel-sel penyusun lapisan epitel vagina yang dapat dideteksi dengan metode apus vagina pewarnaan Giemsa (Brancroft and Steven, 1996).

Uterus merupakan salah satu organ reproduksi betina yang berfungsi sebagai penerima dan tempat perkembangan ovum yang telah dibuahi. Uterus pada tikus berupa tabung ganda, disebut tipe dupleks (Partodihardjo, 1988). Dinding uterus secara histologis terdiri dari tiga lapisan utama, yaitu lapisan endometrium, miometrium dan perimetrium (Burkitt *et al.*, 1993; Ozdemir & Atalar, 2009). Endometrium tikus terdiri dari epitel kolumnar bersilia dan lapisan basal lamina propria. Lamina propria disusun oleh jaringan pengikat longgar, serabut kolagen, fibroblas dan limfosit ditemukan diantara jaringan (Gartner & Hiatt, 1997). Kelenjer uterus ditemukan pada lamina propria (Saruhan *et al.*, 2006).

Miometrium terdiri dari otot polos yang tersusun sirkular di bagian dalam dan longitudinal di bagian luar. Perimetrium disusun oleh jaringan pengikat dan sejumlah pembuluh darah (Dellmann & Carithers, 1996).

Uterus memperlihatkan perubahan siklus baik struktural maupun fungsional sebagai respons atas hormon estrogen dan progesteron ovarium. Perubahan ini menyiapkan uterus untuk implantasi serta tempat makan embrio dan fetus. Apabila implantasi tidak terjadi, pembuluh darah di dalam endometrium akan melemah (Dellmann dan Brown, 1992). Gangguan pada uterus akan mempengaruhi implantasi embrio sehingga mempengaruhi fertilitas.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit biji mete terhadap struktur uterus tikus putih.

METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian : tikus putih galur Wistar betina umur 2,5 bulan, dengan berat 150-200 gram, yang berasal dari LPPT UGM Unit IV. Bahan pembuatan ekstrak: kulit biji mete, etanol destilat 96%, kertas saring, akuades, larutan Natrium Karboksil Metil Sella (CMCNa) 0,5%. Bahan pembuatan preparat apusan vagina: larutan NaCl fisiologis, metanol, pewarna Giemsa.

Bahan pembuatan preparat histologis uterus: uterus, larutan buffer formalin (formalin 40% 100 ml, Sodium phosphate monobasic 4 gr, Sodium phosphate dibasic 6,5 gr, akuades), metanol absolut, parafin 59-60°C, albumin, perekat Albumin-Meyer (albumin telur, gliserin, timol), xylene, larutan alkohol dengan berbagai konsentrasi (70%, 80%, 96% dan alkohol absolut), kanada balsam, pewarna Hematoksin Erlich, larutan eosin 0,5% dalam etanol 70%.

Alat

Alat perlakuan hewan uji: Kandang hewan uji, timbangan hewan, sonde lambung. Alat untuk pengamatan estrus: *cutton bud*, *objek glass*, mikroskop cahaya. Alat yang digunakan pembuatan preparat histologis uterus: alat gelas, peralatan bedah, oven, mikrotom, staining jar, hot plate, lampu spiritus, spatula, kuas, pipet tetes, kertas saring, kapas, tissue, kaca benda dan kaca penutup.

Mikroskop binokuler merk Nikon tipe Eclipse 50i, dilengkapi dengan USB kamera digital tipe sight DS-U2.

Tempat Penelitian

Pembuatan ekstrak uji di Laboratorim Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Unit III UGM. Perlakuan hewan uji, pembuatan dan analisis preparat histologis dilakukan di Laboratorium P. Biologi FKIP UNS.

Metode

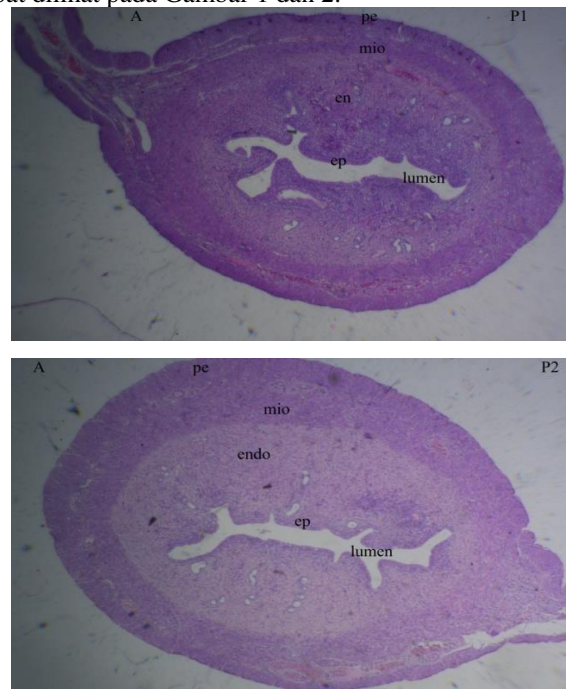
Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan yaitu P1. kontrol, P2. placebo (larutan CMCNa 0,5%) dan P3. pemberian ekstrak kulit biji mete dosis 300 mg/ kg berat badan (BB). Hewan uji digunakan sebanyak 18 ekor tikus putih betina. Pemberian ekstrak dilakukan secara oral selama 25 hari (5-6 kali siklus estrus). Sampel uterus untuk pembuatan preparat histologis diambil saat estrus pada akhir perlakuan. Uterus dibuat sediaan histologis dengan pewarnaan HE dengan ketebalan 4-5 μ .

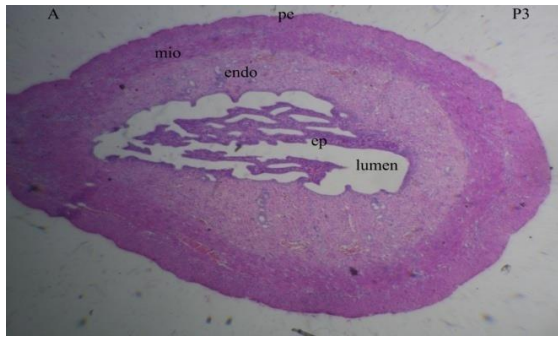
Analisis Data

Preparat histologis dibuat seri, lalu diamati di bawah mikroskop dan dianalisis secara kualitatif dengan membandingkan struktur histologis antar perlakuan.

HASIL

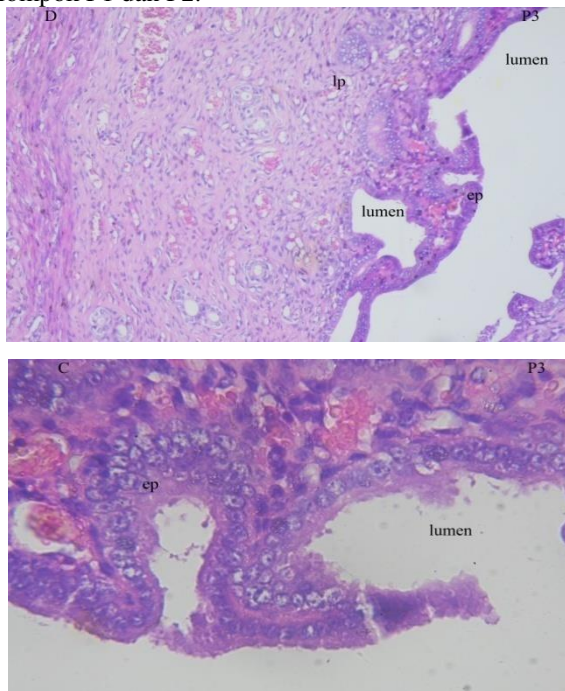
Struktur histologis uterus ketiga kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.





Gambar 1. Struktur uterus P1, P2 dan P3. Pewarnaan HE, Perbesaran 100x P1. Kontrol, P2. Larutan CMCNa 0,5% dan P3. Ekstrak kulit biji mete 300 mg/kg bb.

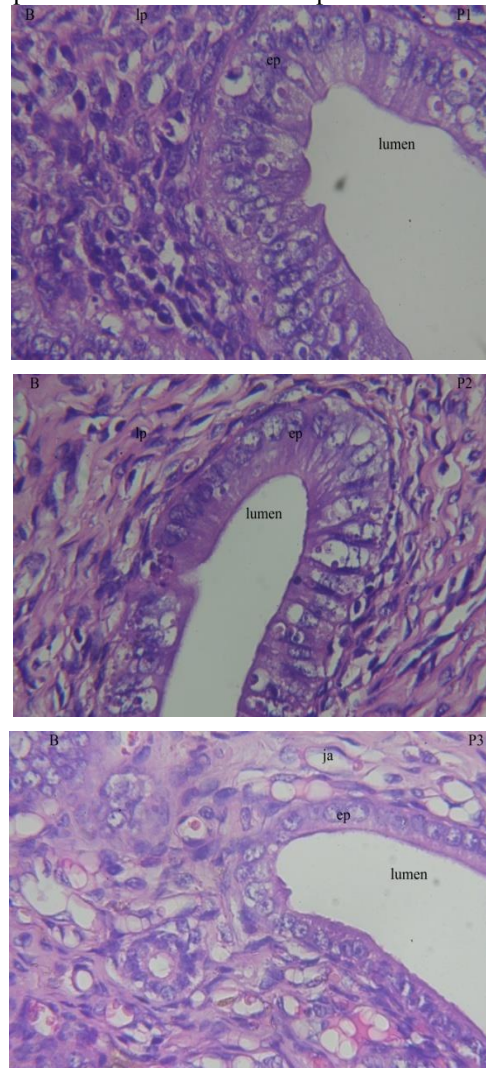
Gambar 1 terlihat struktur uterus semua perlakuan. Struktur uterus kelompok P1 dan P2 terlihat lumen yang bersih, lebar dan epitelnya tersusun teratur. Daerah endometrium terlihat berukuran lebih tebal. Kelompok P3 terlihat lumen yang relatif sempit, daerah endometrium yang relatif tipis dan sel-sel penyusunnya tersusun longgar, serta tebal epitel yang lebih tipis dari pada kelompok P1 dan P2.



Gambar 2. Struktur endometrium perlakuan P3. Pewarnaan HE, Perbesaran 400x

Gambar 2 terlihat adanya sel epitel lain yang terdapat di bagian lumen yang merupakan pelepasan dari bagian mukosa epitel, sehingga epitel menjadi lebih tipis. Sel-sel epitel di daerah endometrium terlihat mengalami lisis, terlihat adanya vaskularisasi jaringan, dimana epitel menempel di kelenjer sehingga lamina propria menjadi tipis. Hal ini disebabkan oleh pemberian ekstrak kulit biji mete, dimana ekstrak kulit biji mete menyebabkan

perubahan pada struktur sel penyusun endometrium. Perubahan struktur endometrium akan mempengaruhi kemampuan endometrium untuk implantasi embrio.



Gambar 3. Struktur sel epitel P1, P2 dan P3. Pewarnaan HE, perbesaran 400x P1. Kontrol, P2. Larutan CMCNa 0,5% dan P3. Ekstrak kulit biji mete 300 mg/kg bb

Gambar 3 untuk P1 dan P2 terlihat struktur epitel endometrium nya adalah epitel kolumnar tinggi. Beberapa sel mempunyai silia, biasanya memiliki mikrovili permukaan. Struktur epitel seperti ini berhubungan dengan fungsinya sebagai tempat implantasi bagi embrio. P3 terlihat struktur epitel endometrium yang berubah menjadi epitel selapis kubus dan tidak terlihat adanya silia. Hal ini terjadi karena adanya pengelupasan dari lapisan mukosa epitel sehingga epitel silindris yang terdapat pada bagian atas terkikis, sehingga yang tertinggal adalah sel epitel di bagian basal yang berbentuk kubus. Adanya perubahan struktur epitel ini bisa menyebabkan implantasi embrio tidak melekat erat, sehingga bisa menyebabkan aborsi. Hal ini sesuai dengan pendapat Anderson and Conning (1988) bahwa senyawa-senyawa yang mempunyai sifat

estrogenik atau anti estrogenik akan mempengaruhi fertilisasi. Pemberian zat senobiotik tertentu pada tikus betina dapat menyebabkan uterotropik (meningkatkan berat uterus). Darios *et al.* (2012) juga menyatakan kehamilan dapat terjadi bila struktur epitel endometrium dan otot-otot penyusun endometrium tidak mengalami perubahan.

Endometrium P3 juga terlihat adanya perlemakan. Hal ini disebabkan karena ekstrak kulit biji mete bersifat lipid sehingga dengan mudah masuk ke bagian dalam/ nukleus dari sel. Dengan cara difusi ekstrak kulit biji mete dapat melewati membran sel yang bersifat lipid bilayer, sehingga terjadi penumpukan lemak di dalam sel. Akibat adanya kelebihan lemak di dalam sel, organel sel (terutama Aparatus Golgi) akan bekerja lebih keras untuk mengubah lemak ini menjadi metabolit sehingga dapat mengganggu kerja sel. Hal ini juga dapat diamati pada kelompok hewan yang diberi perlakuan, vaginanya selalu basah dan lengket. Ekstrak kulit biji mete mengandung senyawa yang bersifat fenolik, dimana senyawa fenolik ini akan memasuki reseptor- reseptor hormon yang dapat berikatan dengan fenolik seperti hormon testosteron, estrogen, progesteron dan prostaglandin.

KESIMPULAN

Hasil penelitian tentang Perubahan Histologis Uterus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar : Aktifitas Antifertilitas Ekstrak Kulit Biji Mete (*Anacardium occidentale* L.) dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit biji mete menyebabkan perubahan struktur uterus tikus albino. Terjadi perubahan susunan epitel endometrium dari epitel berlapis kubus bersilia menjadi epitel selapis kubus.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, D. & Conning, D.M. (Eds), (1988). *Experimental Toxicology, The basic Issues: Assessing Chemical Injury to the Reproductive System*. The Universities Press (Belfast) Ltd, London.
- Burkit, H.G.B., Young, B. & Heat, J.W. (1999). *Wheathers Functional Histology*. A text and Color Atlas. Third ed. Churchill Livingstone. Edinburg.
- Darios, E.S., Seitz, B. & Watts, S.W. (2012). Smooth Muscle Pharmacology in the Isolated Virgin and Pregnant Rat Uterus and Cervix. *J of Pharmacol and Therapeu*, 341, 587-596.
- Gartner, L.P. & Hiatt, J.L. (1997). *Color Textbook of Histology*. W.B. Saunders Co. USA.
- Harlita, Probosari, R.M. & Fatmawati, U. (2013). Pengaruh Ekstrak Kulit Biji Mete (*Anacardium occidentale* L) terhadap Struktur Uterus Tikus Albino. *Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas*, 1, 186-191.
- Harlita, Marjono, Probasari, R.M. (2015). Potensi Rodentisida Ekstrak Kulit Biji Mete (*Anacardium occidentale* L.): Kadar Hormon Progesteron Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina. *Prosiding Seminar Nasional APTA*, 1, 120-126.
- Konan, N.A., Bacchi, E.M., Lincopan, N., Varela, S.D. & Varanda, E.A. (2007). Acute, Subacute Toxicity and Genotoxic Effect of the Hydroethanolic Extract of the Cashew (*Anacardium occidentale* L). *J of Ethnopharmacology*, 110, 30-38.
- Kubo I, Murai H, & Himejima M. (1993). Structure/Antibacterial Activity Relationship of Anacardic Acids. *J Agric Food Chern*, 41.
- Kumar, D., Kumar, A & Prakash, O. (2012). Potential Antifertility Agents from Plants: A Comprehensive Review. *J of Ethnopharmacology*, 140: 1-32.
- Lilia, S.P.M., Quimaldi, R.O., Flavier, M.E. & Villau, M.S.. (1991). Studies on Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nut Oil. *The Philippine Agriculturist*, 74 (4), 511.
- Ozdemir, D. & Atalar, O. (2009). Observations on the Morphology of the Uterus of the Porcupine (*Hystrix cristata*). *Veterinary Archiv*, 79 (4), 379-384.
- Prasad, F.E., Shirish, P.S., Raghunath, P.D. & Samir, S.S. (2007). *In Vivo* Anti-Fertility and Anti-Implantation Activity of Anacardic Acid Methyl Ester in Rats. *Pharmacologyonline* 3.
- Saruhan, B.D., Ozbag, G., Ozdemir, N. & Gumusalan, Y. (2006). Comparative Effect Ovariectomy and Flutamin on Body Uterus Ovariectomized Rat Model. *J. Inonu Med*. 13, 221-226.
- Simpin, I N. (2008). Isolasi Cashew Nut Shell Liquid dari Kulit Biji Mete (*Anacardium occidentale* L) dan Kajian Beberapa Sifat Fisiko Kimianya. *Jurnal Kimia*, 2 (2).
- Sullivan, J.T., Richards, C.S., Lloyd, H.A., & Khirishn, G. (1982). Anacardic Acid: Moluscicide in Cashew Nut Shell Liquid. *Planta Medica*, 44, 175-177.
- Taylor, P. (1994). *Practical Teratology*. WB Saunders Co. London.