

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica*(L.) CORDON RUPA DA OVARIUM MENCIT (*Mus musculus*)

Oleh

Bayyinatul Muchtaromah dan Rabiatal Adwiyah

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Jl Gajayana 50 Malang. Telp.(0341) 468264. Email: bayyinatul_uin@yahoo.co.id

ABSTRAK

Pegagan mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid genin, triterpenoid saponin, flavonoid, dan asam asiatik yang dapat dijadikan bahan antifertilitas. Pada pemberian dosis tinggi, pegagan dapat menurunkan jumlah folikel dan pada dosis rendah dapat meningkatkan jumlah folikel ovarium. Toksisitas ekstrak pegagan biasanya juga dapat menurunkan jumlah folikel yang merupakan indikasi bahwa telah terjadi kerusakan pada sel-sel granulosa. Kerusakan sel yang diakibatkan oleh efek toksik ekstrak pegagan ini akhirnya mengakibatkan pembentukan sistem pertahanan tubuh intraseluler yaitu dengan meningkatnya antioksidan enzimatis SOD dan GSH. Sedangkan GSH dan SOD berfungsi dalam perbaikan sel sehingga mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangan folikel di dalam ovarium. Eksistensi senyawa fitosterol dan triterpenoid yang terkandung dalam pegagan dapat menyebabkan luaran negatif pada pelepasan hormon gonadotropin. Pada akhirnya hal ini dapat mengganggu pembentukan folikel (folikulogenesis) ovarium, berakibat pada tidak dapat berkembangnya folikel menjadi folikel matang (de graff). Tujuan dari penelitian ini yakni untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) terhadap kadar SOD dan GSH pada ovarium mencit (*Mus musculus*). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan (yaitu dosis ekstrak 125, 200, 275, dan 350 mg/kg bb) dan diulang sebanyak 5 kali. Data dianalisis dengan menggunakan ANOVA satu jalur (*One Way ANOVA*) dan apabila ada perbedaan maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5%. Hewan coba yang digunakan adalah mencit betina fertil galur Balb/c. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) dosis 200 mg/kg bb, 275 mg/kg dan 350 mg/kg bb, dapat menurunkan kadar SOD dalam ovarium mencit, sehingga dapat mengganggu proses perbaikan sel granulosa yang diakibatkan sifat sitotoksik dari ekstrak daun pegagan. Hal ini mengakibatkan penurunan jumlah folikel dalam ovarium mencit sehingga dapat dijadikan bahan antifertilitas. Akan tetapi, pada dosis 125 mg/kg bb dapat meningkatkan kadar SOD dalam ovarium mencit dibandingkan dengan mencit kontrol (tanpa perlakuan). Pengamatan GSH tidak didapatkan pengaruh kadar GSH.

Kata Kunci : Ekstrak Daun Pegagan (*C. asiatica*), Kadar Antioksidan SOD dan GSH, Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

PENDAHULUAN

Pegagan (*C. asiatica*), telah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional baik dalam bentuk bahan segar, kering maupun dalam bentuk ramuan. Tanaman ini telah terbukti memiliki efek farmakologi yang telah terbukti dari beberapa penelitian, di Australia pegagan telah banyak dimanfaatkan sebagai obat untuk penyembuhan luka, radang, rematik, asma, wasir, tuberculosis, disertai, demam dan penambahan selera makan (Besung, 2009).

Pegagan juga telah terbukti berkhasiat sebagai obat melalui beberapa hasil riset terbaru. Ekstrak pegagan mampu menghambat terbentuknya lesi lambung pada tikus yang diinduksi

dengan etanol, sehingga dapat meningkatkan rata-rata jumlah hepatosit normal dan menurunkan rata-rata jumlah hepatosit rusak pada tikus putih setelah perlakuan alkohol.

Selain sebagai dimanfaatkan sebagai obat, kandungan bahan aktif pegagan ini juga diyakini dapat mempengaruhi metabolisme pada organ-organ reproduksi wanita. Hasil penelitian Febrianika (2008) menunjukkan bahwa kandungan triterpenoid saponin pada pegagan dapat merevitalisasi pembuluh darah sehingga peredaran darah ke otak menjadi lancar. Pegagan juga dapat dimanfaatkan untuk menstimulasi saraf memori sehingga dapat digunakan sebagai alternative lain dari tanaman *Ginkgo biloba*.

Menurut Limbong (2007) bahan aktif steroid dan triterpenoid yang terdapat pada pegagan diduga merupakan bahan aktif yang bekerja sebagai faktor antifertilitas. Hal tersebut disebabkan kedua bahan aktif tersebut mampu menyebabkan gangguan pada jalur hipotalamus hipofise yang selanjutnya mengakibatkan gangguan sekresi GnRH. Pada tahap akhir hal tersebut akan berpengaruh terhadap pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel.

Menurut Adimuca (1996) senyawa saponin yang terkandung dalam pegagan juga bersifat estrogenic yang akhirnya mempengaruhi siklus menstruasi dan perkembangan folikel. Saponin yang bersifat esterogenik ini juga berkontribusi dalam meningkatkan kadar estrogen di dalam darah. Tingginya kadar estrogen dalam darah dapat menghambat hipofisis dalam mensekresikan hormon gonadotropin (FSH) melalui umpan balik negatif. Sedangkan menurunnya kadar FSH akan mengakibatkan terhambatnya perkembangan folikel di dalam ovarium.

Pada dasarnya senyawa fitokimia bekerja melalui efek sitotoksik dan efek gangguan terhadap keseimbangan sistem hormonal. Golongan senyawa flavonoid dan alkaloid bekerja dengan menggunakan efek hormon (Gruber, 2002). Robinson (1995) menyatakan bahwa isoflavan dari golongan flavonoid, saponin dan alkaloid menstimulasi pembentukan estrogen pada mamalia.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Fitriyah (2009) menunjukkan bahwa pegagan sangat efektif dalam menaikkan jumlah folikel primer, sekunder dan tertier pada ovarium dengan dosis 75 mg/kg BB. Akan tetapi pada dosis 100 mg/kg BB dan 125 mg/kg BB cenderung menurunkan jumlah folikel primer, sekunder, tertier dan de graf. Penurunan jumlah folikel pada kedua dosis tersebut disebabkan oleh terjadinya kerusakan pada sel-sel granulosa akibat efek toksisitas rendah dari ekstrak pegagan. Dalam jumlah besar zat aktif triterpenoid akan mampu menyebabkan penghambatan pelepasan LH dan FSH. Hasil penelitian diatas menyimpulkan bahwa bahan aktif pegagan dalam dosis rendah dapat meningkatkan jumlah folikel pada ovarium, sedangkan dosis tinggi dapat menurunkan jumlah folikel-folikel pada ovarium.

Tingginya jumlah folikel pada pemberian ekstrak daun pegagan dosis rendah disinyalir dapat meningkatkan kadar antioksidan dalam ovarium. Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Karting (1988) yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak pegagan selama 14 hari mampu meningkatkan antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD) sebesar 35 (%), katalase (67%), dan glutathione Peroxidase (49%). Menurut Halliwell dan Gutteridge (2001), kadar senyawa antioksidan tertentu pada dosis yang berlebihan dapat berubah menjadi prooksidan, sehingga dapat memperparah kerusakan oksidatif.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu mencit kontrol (tanpa perlakuan) dan mencit dengan perlakuan ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) dengan 4 dosis yang berbeda.

Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas 3 variabel. Variabel bebas berupa ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*), yang dibuat dalam 4 dosis berbeda, yaitu: 125 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB, 275 mg/Kg BB dan 350 mg/Kg BB; variabel terikat pada penelitian ini ialah efektifitas antioksidan dari ekstrak daun pegagan terhadap ovarium mencit (*Mus musculus*), dan variabel terkontrol mencit (*Mus musculus*) betina fertil galur Balb/c yang diberi makan pellet dan diberi minum secara *ad libitum*.

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai Desember 2012. Bertempat di Laboratorium Biosistematik Jurusan Biologi Fakultas Sainstek UIN Maliki Malang, untuk pengujian kadar SOD dan GSH dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Populasi dan Sampel

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) betina berumur \pm 4 bulan, dengan berat 13-26 gram dari galur Balb/c. Banyaknya Sampel adalah 25 ekor mencit (*Mus musculus*) betina dan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, dimana setiap kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor mencit (*Mus musculus*) betina sebagai ulangan.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi; kandang pemeliharaan mencit, tempat makan dan minum mencit, *cotton buds*, timbangan analitik, obyek glass, mikroskop

binokuler Nikon E 100, mikropipet, sonde lambung bayi, corong buchner, perangkat rotary evaporator vacuum, labu ukur, gelas ukur, beaker glass, beaker glass, hot plate, spatula, seperangkat alat bedah, papan seksi, aluminium foil, plastic wrap, spuit insulin 1 ml, botol 10 ml, sarung tangan, vortex, tube, tissue, inkubator, spektrofotometri, dan sentrifuge.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) fertil galur Balb/c yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada, simplisia daun pegagan (*C. asiatica*) diperoleh dari Balai Materia Medika Batu, etanol 70 %, NaCMC, sekam, pelet, air sumbu, Spuit 1 ml, PGF₂ α (merek dagang Lutalyse buatan Pfizer Australia diperoleh dari Lokal Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan), Xantin e Oxidase, PCA (Perchloric Acid, 6 N), NaCl fisiologis 0,9 %, PBS, xantine, Glutation Assay Buffer, dan OPA (0-phthalaldehyde).

Kegiatan Penelitian

1. Persiapan Hewan Coba

Hewan coba mulai diaklimatisasi 1 bulan sebelum perlakuan pada suhu kamar (20-25°C). Selama proses aklimatisasi ini mencit diberi makan pelet dan diberi minum secara *adlibitum*.

2. Pembagian Kelompok Sampel Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit sebagai ulangan.

3. Pembuatan Ekstrak

4. Pembuatan Sediaan Larutan Na CMC 0,5%

5. Penyerentakan Siklus Birahi

Penyerentakan birahi dilakukan sebelum diberikan perlakuan. Hal ini dilakukan karena hewan coba betina cenderung dipengaruhi oleh siklus birahi. Penyerentakan dilakukan dengan menginjeksikan hormon prostaglandin 0,5 mg yang dilakukan secara intramuskular dan total konsentrasi terakhir sebanyak 0,1 ml hormon prostaglandin.

6. Penentuan Fase

Tahapan yang pertama adalah memasukkan *cotton buds* ke lubang vagina untuk mendapatkan lendir yang lendir tersebut akhirnya diletakkan ke objek glass. Pemeriksaan apusan vagina diamati dengan menggunakan mikroskop.

7. Pemberian Perlakuan

Ekstrak pegagan diberikan secara oral pada mencit betina fertil dengan cara dicekok menggunakan sonde lambung bayi dan dilakukan setelah 3 hari pasca injeksi hormon prostaglandin. Pemberian ekstrak dilakukan selama 30 hari dengan menimbang ekstrak

kental sesuai dosis yang telah ditentukan dan diencerkan dengan larutan Na CMC 0,5% sebanyak 0,5ml agar tidak melebihi kapasitas gastrik mencit.

8. Pengambilan sampel untuk pengamatan kadar antioksidan pada ovarium mencit (*Mus musculus*) betina

9. Pengujian enzimatik

- Pengujian *Superoxid Dismutase* (SOD) dan Glutathion tereduksi (GSH)

10. Pembuatan Preparat Histologi

11. Pengamatan Preparat Ovarium

Sediaan mikroanatomi ovarium mencit diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali (10x40) yang kemudian langsung difoto.

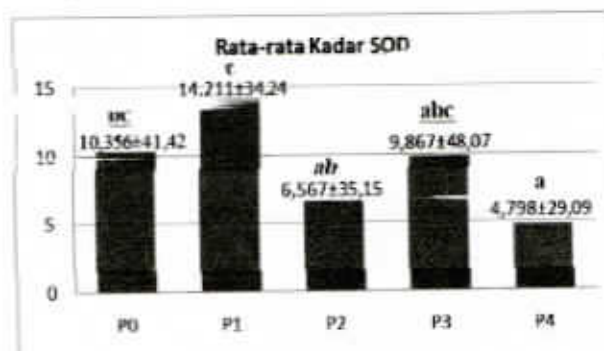
Analisis Data

Kadar SOD dan GSH dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA satu jalur (One Way ANOVA). Apabila terdapat beda nyata diantara semua perlakuan, maka dilakukan uji lanjut BNT dengan taraf signifikansi 5 %.

HASIL

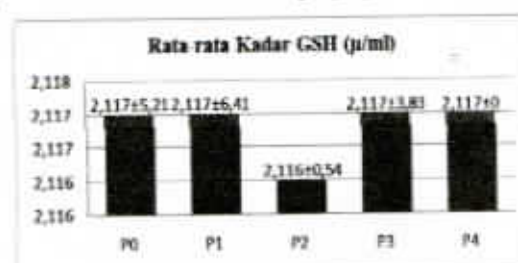
Pengaruh ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) terhadap kadar Superoksida Dismutase (SOD)

Gambar 1. Grafik Kadar *Superoxid*dismutase (SOD) pada ovarium mencit(*Mus musculus*) setelah diberi perlakuan ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) selama 30 hari

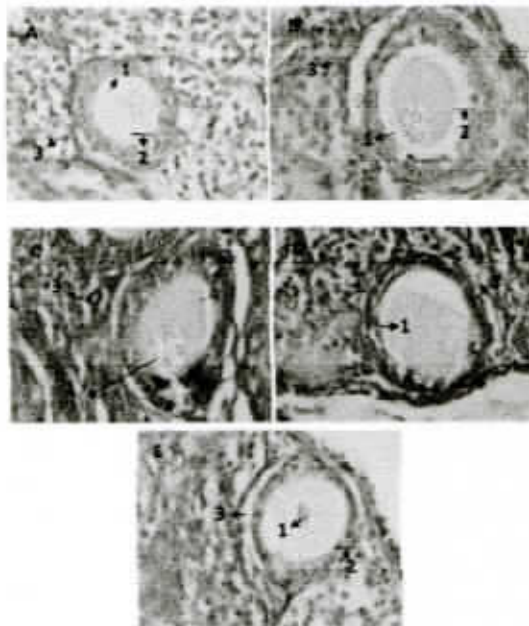


Pengaruh ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) terhadap kadar Glutathion Superoksida Hidroksil (GSH)

Gambar 2. Grafik Kadar Glutathion Superoksida Hidroksil (GSH) pada ovarium mencit (*Mus musculus*) setelah diberi perlakuan ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) selama 30 hari

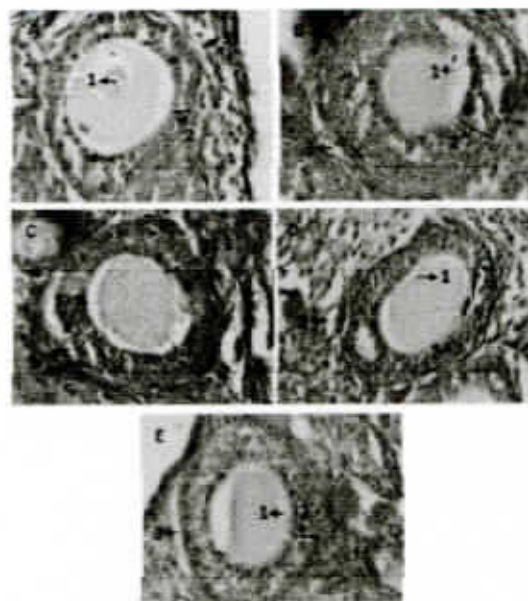


Pengaruh ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) terhadap ketebalan sel granulosa folikel primer

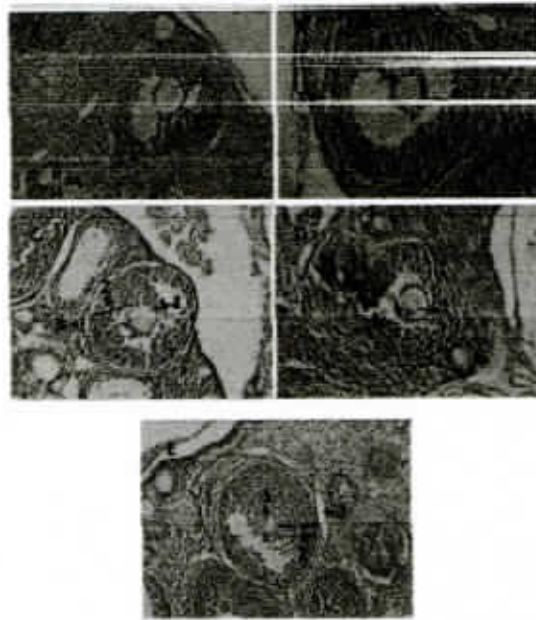


Gambar 3. Histologi Ketebalan Folikel Sekunder setelah pemberian ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) (perbesarana 10X40); A (mencit kontrol); B (Dosis 125 mg/kg bb); C (200 mg/kg bb); D (275 mg/kg bb); E (350 mg/kg bb). 1. Oosit, 2. Ketebalan sel , 3. Sel teka.

Pengaruh ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) terhadap ketebalan sel granulosa folikel sekunder



Gambar 7. Histologi Ketebalan Folikel Primer setelah pemberian ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) (perbesarana 10X40); A (mencit kontrol); B (Dosis 125 mg/kg bb); C (200 mg/kg bb); D (275 mg/kg bb); E (350 mg/kg bb). 1. Oosit, 2. Ketebalan sel , 3. Sel teka.



Gambar 11. Histologi Ketebalan Folikel Tersier setelah pemberian ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) (perbesarana 10X10); A (mencit kontrol); B (Dosis 125 mg/kg bb); C (200 mg/kg bb); D (275 mg/kg bb); E (350 mg/kg bb). 1. Oosit, 2. Ketebalan sel , 3. Sel teka.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian dan analisis statistik dengan Anova menggunakan *OneWay* menunjukkan bahwa F hitung $>$ F tabel 0,05 yang berarti H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh dari pemberian ekstrak daun pegagan terhadap kadar SOD dalam ovarium.

Uji lanjut BNT 5% diketahui bahwa kadar SOD tertinggi diperoleh pada perlakuan-1 (dosis 125 mg/kg bb) sebesar 14,11 (μ /ml), hasil ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan-0 (mencit kontrol) yakni sebesar 10,356 (μ /ml) dan perlakuan-3 (dosis 275 mg/kg bb) sebesar 9,866 (μ /ml), akan tetapi hasil ini berbeda nyata dengan perlakuan-2 (dosis 200 mg/kg bb) yakni sebesar 6,567 (μ /ml) dan perlakuan keempat (350 mg/kg bb) sebesar 4,797 (μ /ml).

Hasil penelitian menunjukkan makin tinggi dosis ekstrak daun pegagan dalam ovarium mencit maka semakin rendah kadar SOD. Penurunan kadar SOD dalam ovarium mencit ini diduga karena adanya senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam pegagan di antaranya saponin dan flavonoid. Senyawa aktif ini jika dikonsumsi dalam dosis tinggi dapat menyebabkan sitotoksik pada sel, sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel dalam folikel di ovarium antara lain sel granulosa. Selain dapat

menyebabkan sitotoksik senyawa fitokimia juga dapat mengganggu kerja hormon dalam tubuh.

Senyawa fitokimia mempunyai beberapa mekanisme kerja. Gruber (2002) menyatakan bahwa pada dasarnya senyawa fitokimia bekerja dengan dua mekanisme yaitu melalui efek sitotoksik dan gangguan terhadap keseimbangan sistem hormonal tubuh.

Beberapa bahan aktif dalam pegagan diduga dapat menyebabkan efek sitotoksik diantaranya senyawa alkaloid. Efek sitotoksik alkaloid tersebut akan menyebabkan gangguan metabolisme sel folikel. Gangguan pada metabolisme sel umumnya akan didahului oleh berkurangnya asupan oksigen disebabkan oleh adanya pengaruh senyawa toksik dalam ekstrak daun pegagan ke dalam tubuh. Hal ini selaras dengan pernyataan Winekler *et al.*, (1971) dalam Rusmiati (2010) bahwa oksigen sangat penting bagi berbagai reaksi seluler sehingga terganggunya suplai oksigen berakibat reaksi seluler tidak berjalan sebagaimana mestinya.

Kandungan lain yang dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel granulosa dalam ovarium yakni kandungan fitosteroid. Kandungan fitosteroid pada pegagan dengan dosis tinggi dapat menyebabkan terjadinya feedback negatif yang menyebabkan turunnya kadar LH dan FSH. Kedua hormon ini mempunyai peran penting di dalam perkembangan dan pertumbuhan folikel atau folikulogenesis.

Fitosterol merupakan turunan senyawa sterol, yang dahulu hanya ditemukan pada hewan dalam bentuk kolesterol sebagai bahan baku pembentuk hormon seks. Senyawa-senyawa fitosterol yang terdapat pada tumbuhan antara lain : sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol (Tisnajaya dkk, 2005). Apabila kandungan hormon steroid tinggi dalam darah maka perkembangan folikel ketahapan selanjutnya akan terganggu sehingga mempengaruhi jumlah folikel yang ada di ovarium.

Menurut Robinson (1995), flavonoid merupakan salah satu senyawa aktif pada pegagan yang bersifat estrogenic atau menyerupai estrogen. Isoflavon yang merupakan golongan flavonoid adalah zat yang serupa dengan estrogen, namun berbeda dengan ikatan OH. Di dalam tubuh isoflavon bersifat mirip dengan estrogen. Secara insitu dibuktikan bahwa isoflavon mengadakan aksi *inhibisi tirosin kinase* yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan (Robinson, 1995). Flavonoid bukan estrogen tetapi bersifat estrogenik atau menyerupai estrogen, dimana flavonoid dapat bekerja seperti halnya hormon estrogen dan kadarnya tidak terlalu tinggi di dalam tubuh.

Penelitian Fitriyah (2009), menyatakan pegagan efektif menaikkan jumlah folikel primer, sekunder dan tertier yaitu pada dosis 75 mg/Kg BB. Sedangkan dosis 100 mg/Kg BB dan dosis 125 mg/Kg BB cenderung menurunkan jumlah folikel primer, sekunder, tertier dan de Graff. Penurunan jumlah folikel tersebut, diduga karena adanya peranan zat aktif terhadap

metabolisme hormonal, terutama terkait dengan metabolisme dan sintesis hormon reproduksi. Keberadaan zat aktif triterpenoid saponin dan fisterol pada dosis tinggi disinyalir mampu menyebabkan *feedback negatif* pada pelepasan hormon-hormon gonadotropin.

Kaspul (2007) menyatakan bahwa bahan aktif alkaloid steroid dapat dipakai sebagai bahan dasar pembuatan hormon steroid dan alkaloid steroid ini dapat mengganggu keseimbangan hormone gonadotropin. Adanya senyawa saponin, flavonoid dan alkaloid steroid juga dapat menurunkan jumlah folikel, jumlah korpus luteum dan tebal sel teka. Penggunaan ekstrak pegagan dalam jumlah yang berlebihan juga diduga dapat mengakibatkan terjadinya sitotoksik dalam sel yang kemudian dapat berakibat pada kerusakan sel dalam ovarium. Kerusakan sel ini ditandai dengan kematian sel. Menurut penelitian Fitriyah (2006) Pemberian secara berulang dan terus menerus di atas dosis 94,5 mg/kg bb akan memberikan efek toksik. Hal ini terlihat pula pada penurunan jumlah folikel dengan dosis 100 dan 125 mg/kg bb. Pemberian dosis ini disinyalir dapat menimbulkan kerusakan pada sel-sel akibat efek toksisitas rendah dari ekstrak pegagan.

Ada banyak faktor yang menyebabkan matinya sel termasuk ovum sehingga tidak mampu berkembang sampai pada tahapan selanjutnya. Di samping apoptosis sel yang sudah terprogram, ada juga kontribusi lingkungan diluar sel yang juga berperan seperti akibat paparan bahan-bahan dari luar tubuh. Daun pegagan mengandung zat aktif berupa asam asiatic. Pemberian asam asiatic berlebih yang terkandung dalam pegagan akan menyebabkan apoptosis sel (Fitriyah, 2009).

Apoptosis merupakan proses kematian secara alami dan terprogram. Apoptosis terjadi ketika sel mengalami kerusakan yang tidak dapat diperbaiki lagi misalnya terinfeksi virus, mengalami stress misalnya kekurangan nutrien, kerusakan DNA akibat radiasi, ionisasi atau bahan beracun, atau juga disebabkan aktivitas gen penekan tumor dan radikal bebas. Peristiwa apoptosis biasanya dikarakterisasi oleh adanya perubahan permeabilitas membran mitokondria. Kerusakan sel merupakan gangguan atau perubahan yang dapat mengurangi viabilitas atau fungsi esensial sel (Algiansyah, 2009).

Apoptosis melibatkan serangkaian kejadian biokimiawi melalui transduksi sinyal yang menyebabkan perubahan morfologis bahkan kematian sel. Mekanisme apoptosis yang dapat merubah morfologis sel tersebut, yaitu penyusutan sel, kondensasi kromatin, fragmentasi DNA, kerusakan membrane inti dan sel pecah menjadi beberapa vesikel yang disebut badan apoptosis. Badan apoptosis tersebut akan dikenali oleh sel makrofag kemudian akan terjadi proses fagositosis. Perubahan yang terjadi dalam sel apoptosis memediasi pembelahan DNA menjadi fragmen-fragmen (Gewies 2003).

Menurunnya kadar hormone reproduksi akibat asam asiatic yang kemudian menyebabkan apoptosis sel ini menyebabkan terganggunya proses folikulogenesis. Proses

folikulogenesis dipengaruhi oleh hormon-hormon yang dihasilkan oleh hipotalamus, hipofisa dan ovarium. Hormon yang terlibat meliputi hormon lutein (LH), hormon perangsang folikel (FSH), progesterone, estrogen, dan inhibin (Wiji, 2006).

Terganggunya proses folikulogenesis ini juga sangat mengganggu kerja dari hormon-hormon yang terdapat dalam ovarium. Salah satu pengaruh yang terlihat adalah terjadinya penurunan kadar FSH dalam Ovarium. Penurunan kadar FSH dalam ovarium dapat mempengaruhi sel dalam menghasilkan zat-zat gizi, hormon dan enzim yang penting untuk perkembangan folikel ovarium. Hal ini menyebabkan terjadinya penurunan efektifitas rangsangan untuk pembentukan dan pendewasaan folikel dalam ovarium, akibatnya perkembangan folikel tidak dapat berkembang menjadi folikel matang (Partohiharjo, 1992).

Kemunduran gizi pada folikel ovarium akan menyebabkan atrofi ovarium. Atrofi ovarium, yaitu mengecilnya ukuran ovarium. Atrofi terjadi karena adanya perubahan dalam ovarium, yang disebabkan oleh saponin. Terjadinya atrofi pada ovarium akan memberikan dampak atau pengaruh terhadap kemampuan folikel untuk berkembang menjadi folikel de graff (Mahriani, 2008). Purnomo (2008) mengatakan bahwa pada umumnya semakin tinggi konsentrasi suatu formulasi maka semakin tinggi pula bahan aktif yang dikandung. Zat aktif tersebut mampu mempengaruhi kerja hormon dan metabolisme sel.

Kerusakan sel yang dapat terjadi akibat efek sitotoksik maupun gangguan hormonal juga sangat dipengaruhi oleh kinerja antioksidan enzimatis yang terdapat dalam tubuh. Hal ini dikarenakan antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat bekerja dalam memperbaiki sel. Pembentukan senyawa antioksidan yang terlalu berlebihan akibat senyawa-senyawa aktif dalam pegangan dapat menyebabkan terjadinya *ReactiveOxygen Species* (ROS). ROS (Reactive Oxygen Species) adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok nonradikal.

Senyawa oksigen reaktif umumnya dihasilkan dalam proses metabolisme oksidatif dalam tubuh seperti pada proses oksidasi makanan menjadi energi. ROS yang paling banyak berpengaruh pada sistem reproduksi meliputi hydroxyl radicals ($\text{OH}\cdot$), peroxy radicals ($\text{RO}_2\cdot$), superoxide anion ($\text{O}_2\cdot^-$), dan hydrogen peroxide (H_2O_2) (Tremallen, 2008).

Kondisi antara produksi radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif dengan kemampuan antioksidan alami tubuh mengalami gangguan sehingga menyebabkan ketidakstabilan rantai reduksi-oksidasi normal. Hasil akhirnya adalah kerusakan oksidatif jaringan. Kerusakan ini juga tergantung pada beberapa faktor, diantaranya: mekanisme yang terlibat, tingkat stres yang terjadi, target molekuler, serta waktu dan sifat alami dari sistem yang diserang (Winarsi, 2007).

Beberapa radikal bebas yang banyak ditemukan di dalam tubuh kita adalah superoksida. Radikal ini terbentuk ketika oksigen tereduksi di membrane mitokondria bagian

dalam. Radikal ini dapat memicu reaksi berantai pada asam lemak phospholipid, sehingga terjadi peroksidasi lipid pada membrane dan hilangnya lapisan membran yang penting untuk fungsi reseptor dan enzim yang terikat pada membran. Dalam keadaan stres oksidatif, lebih banyak radikal oksigen dihasilkan, melebihi antioksidan seluler. Hasil akhirnya akan menyebabkan peroksidasi asam lemak tak jenuh-ganda pada struktur membran. Peroksidasi lipid juga akan melepaskan radikal bebas reaktif dan juga aldehid yang toksik, yang akan menginaktivasi enzim dan komponen seluler lainnya secara menyeluruh. Beberapa antioksidan enzimatik dan non-enzimatik ada di dalam sel untuk melindungi membran sel dan organ sel lainnya dari efek reaksi radikal bebas yang merusak.

Penambahan bahan aktif dalam sel yang menyebabkan antioksidan dan ROS bertambah juga menyebabkan perubahan fungsi dari antioksidan sendiri. Kerja antioksidan yang semula membantu menetralkan radikal bebas malah menjadi prooksidan sehingga tidak terjadi penetralan radikal bebas dalam sel yang diakibatkan tingginya ROS sehingga kerusakan dalam sel semakin bertambah.

Hal ini sesuai yang dijelaskan oleh Halliwell dan Gutteridge (2001), bahwa kadar senyawa antioksidan tertentu pada dosis yang berlebihan dapat berubah menjadi prooksidan, sehingga dapat memperparah kerusakan oksidatif. Hal ini juga kemungkinan berkaitan dengan semakin rendahnya kadar SOD pada dosis 350 mg/kg bb pada penelitian ini.

Pernyataan di atas juga dibuktikan dengan hasil pengukuran kadar GSH. Uji ANOVA satu jalur menunjukkan bahwa $F_{hitung} < F_{tabel}$. Sehingga hipotesis nol (H_0) diterima dan hipotesis 1 (H_1) ditolak. Hasil ini menunjukkan hasil bahwa pemberian ekstrak daun pegagan sebagai bahan antifertilitas tidak berpengaruh nyata terhadap kadar GSH pada ovarium mencit, sehingga dimungkinkan tidak terjadi perbaikan sel.

Fungsi utama dari GSH ini adalah perbaikan sel. Antioksidan GSH berfungsi sebagai senyawa yang mampu menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul reaktif sehingga mampu mencegah kerusakan sel (Winarsih, 2007).

Tidak adanya pengaruh pada pengujian kadar GSH ini diduga karena substrat yang diikat pada pengujian GSH ini, yakni radikal hidroksil. Hal ini disebabkan karena radikal hiksosil merupakan radikal yang mudah terpapar oleh udara. Menurut Das (2002) radikal hidroksil adalah radikal yang sangat reaktif. Radikal ini dapat bereaksi dengan hampir seluruh biomolekul.

Sugiyanta (2007) menyatakan GSH adalah sistem proteksi endogen yang utama, karena GSH secara langsung terlibat dan berpartisipasi aktif dalam penghancuran senyawa reaktif oksigen dan juga mempertahankan bentuk reduced (aktif). GSH sebagai antioksidan (antioksidan dari sel tubuh sendiri), juga disebut master antioksidan karena dapat mengatur kerja antioksidan lainnya.

Hasil diatas didukung pula dengan hasil pengamatan pada ketebalan sel sel ovarium mencit pada beberapa tahapan folikel. Berdasarkan gambaran histologi sel didapatkan ketebalan sel pada folikel primer (perbesaran 10X40) tidak didapatkan pengaruh yang nyata, sedangkan pada folikel sekunder diperoleh pengaruh yang nyata yakni perlakuan perlakuan-1 (dosis 125 mg/kg bb) menunjukkan ketebalan sel granulosa folikel sekunder tertinggi. Dari hasil ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan-2 (dosis 200 mg/kg bb) dan perlakuan-4 (dosis 350 mg/kg bb) sedangkan perlakuan-0 (tanpa perlakuan) tidak berbeda nyata dengan perlakuan-3 (dosis 275 mg/kg bb). Gambaran histologi folikel tersier (perbesaran 10X10) menunjukkan hasil tidak adanya pengaruh yang signifikan.

PENUTUP

Pemberian ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) pada dosis 350 mg/kg BB dapat menurunkan kadar Superoksida Dismutase (SOD) sehingga dapat dijadikan bahan antifertilitas. Tidak terdapat pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak daun pegagan terhadap kadar GSH.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengaruh ekstrak daun pegagan (*C. asiatica*) terhadap inhibin pada ovarium mencit yang dapat dijadikan sebagai bahan antifertilitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Adimunca, Cornelis. 1996. Kemungkinan Pemanfaatan Ekstrak Buah Pare sebagai bahan kontrasepsi pria. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran* (112):12-14.
- Astuti, Endah Setyo. 2005. Pengaruh Seduhan Daun Pegagan (*Centella asiatica*) Terhadap Struktur Hepatosit Tikus Putih Setelah Perlakuan Alkohol. Skripsi tidak diterbitkan. Jember : Universitas Negeri Jember.
- Besung, Kerta nengah I. 2009. Pegagan (*Centella asiatica*) Sebagai Alternatif Pencegahan Infeksi Pada Ternak. *Jurnal Penelitian* Vol.2 No 126 Agustus 2009. Bali : Universitas Udayana
- Fitriyah. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi tidak diterbitkan*. UIN Maliki Malang
- Halliwell B, Gutteridge JMC, 1999, *Freeradical in biology and medicine*, 3 rd, Oxford.

- Kaspul. 2007. Kadar Testosteron Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L) Setelah Mengonsumsi Buah Terong Tukak (*Solanum torvum* Sw). *Jurnal Bioscientiae* . 4 (1): 1-8.
- Limbong, Theresia. 2007. *Pengaruh Ekstrak Ethanol Kulit Batang Pakettu (Ficus superba Miq) Terhadap Folikulogenesis Ovarium Mencit (Mus musculus)*. Dalam Abstrak Jurnal Penelitian. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung. ITB
- Tisnajaya dkk, 2005. *Pengkajian Kandungan Fitosterol pada Tanaman Kedawung (Parkia roxburgii G. Don)*. *Jurnal Biodiversitas Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia*. Volume 7 No 1.
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta. Kanisius

**KELOMPOK STUDI ILMU HAYATI,
BIOMEDIK – KEDOKTERAN**

SERTIFIKAT

NO. 003/KSIH/03/2014

DIBERIKAN KEPADA

Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.

Atas partisipasinya sebagai

Pembicara/Peserta/Panitia

Dalam Acara “ Seminar Nasional Kelompok Studi Ilmu Hayati, Biomedik dan Kedokteran”
Pada Hari Sabtu, 15 Maret 2014

Ketua KSIHBK



Prof. Sutiman Bambang Sumitro, SU.,D.Sc

NIP. 19540311 198002 1 002

Malang, 15 Maret 2014

Ketua Panitia



Dr. Dra. Sri Rahayu, M.Kes

NIP.19620528 198701 2 001