

The Extract of *Tristania Sumatrana* Miq. to Lower Primary, Secondary and Tertiary Follicles in Swiss Webster Mice

(Pemberian Ekstrak *Tristania Sumatrana* Miq. untuk Menurunkan Folikel Primer, Sekunder dan Tersier Mencit Swiss Webster)

Syamsurizal^{1*} dan Arief Muttaqin²

Biology Department, Universitas Negeri Padang, Indonesia^{1*}
(syam_unp@fmipa.unp.ac.id)

Science Education Department, Universitas Negeri Padang, Indonesia²

ABSTRACT

The use of traditional medicinal plants is generally based on empirical experience; therefore, a scientific approach is needed to bring traditional medicine into the practice of medicine and formal health services. *Tristania sumatrana* Miq. is one of the traditional medicinal plants that are often used as contraceptives for women in the villages of Lembah Bawan and Kampung Dalam (West Sumatra). The extract of *Tristania sumatrana* Miq. can extend the estrus cycle of *Mus musculus* into eleven days. The purpose of this research is to know the effect of *Tristania sumatrana* Miq. extract to the fertility of female mice. The experiments were conducted with a randomized 5x2 group design. Five dosage groups: untreated control, placebo, treatment with doses 600, 900 and 1200 mg/kgbw and two treatment groups: 10 and 20 days. The fertility parameters studied were ovarian weight, number of primary, secondary, tertiary follicles. The results prove the extract of *Tristania sumatrana* Miq. causing a very significant decrease in ovarian weight (treatment of 900 mg/kg bb for 10 days), number of primary and secondary follicles (1200 mg / kg bb for 10 days), and tertiary (600 mg / kg bb for 20 days). The extract of *Tristania sumatrana* Miq. causing a decline in *Mus musculus* fertility.

Index Terms: Fertility, Mus musculus, Tristania sumatrana

ABSTRAK

Penggunaan tanaman obat tradisional pada umumnya berdasarkan pengalaman empiris, oleh sebab itu diperlukan pendekatan ilmiah guna membawa obat tradisional ke dalam praktik kedokteran dan pelayanan kesehatan formal. *Tristania sumatrana* Miq. Merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang sering digunakan sebagai obat kontrasepsi untuk wanita di desa Lembah Bawan dan Kampung Dalam (Sumatera Barat). Ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. dapat memperpanjang siklus estrus *Mus musculus* menjadi sebelas hari. Tujuan penelitian mengetahui pengaruh pencekokan ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. terhadap fertilitas mencit betina. Eksperimen dilakukan dengan rancangan acak kelompok 5x2. Lima kelompok dosis: kontrol tanpa perlakuan, plasebo, perlakuan dengan dosis 600, 900 dan 1200 mg/kgbb dan dua kelompok lama perlakuan: 10 dan 20 hari. Parameter fertilitas yang diteliti adalah berat ovarium, jumlah folikel primer, sekunder, tersier. Hasil penelitian membuktikan pencekokan ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. menyebabkan penurunan sangat bermakna berat ovarium (perlakuan 900 mg/kg bb selama 10 hari), jumlah folikel primer dan sekunder (1200 mg/kg bb selama 10 hari), serta tersier (600 mg/kg bb selama 20 hari). Pencekokan ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. menyebabkan penurunan fertilitas *Mus musculus*.

Index Terms: Fertilitas, Mus musculus dan Tristania sumatrana

* Corresponding author. This is useful to know for communication with the appropriate person in cases with more than one author.

I. PENDAHULUAN

Di negara sedang berkembang seperti Indonesia, meskipun pelayanan kesehatan dan kedokteran didasarkan pada sistem kedokteran modern, tetapi pemakaian obat tradisional masih banyak digunakan di masyarakat terutama di pedesaan. Di Indonesia pemanfaatan tumbuhan sebagai bahan obat telah dilakukan sejak lama. Salah satu di antaranya untuk keluarga berencana. Keadaan ini didukung faktor geografis dan demografis.

Indonesia sebagai negara kepulauan di daerah tropis kaya dengan berbagai spesies flora. Dari empat puluh ribu jenis flora yang ada di dunia, tiga puluh ribu di antaranya tumbuh di Indonesia. Sebagian besar penduduk Indonesia tinggal di pedesaan, sehingga pemerataan pelayanan kesehatan sulit dilakukan. Keadaan ini menyebabkan belum semua penduduk dapat menikmati pelayanan kesehatan secara modern, termasuk pelayanan keluarga berencana yang diprogramkan pemerintah WHO juga menganjurkan untuk menggunakan cara-cara pengobatan tradisional sebagai pelengkap untuk pemerataan pelayanan kesehatan kepada seluruh rakyat (WHO, 1991).

Penggunaan obat-obatan tradisional (terutama tumbuh-tumbuhan) saat ini pada umumnya berdasarkan pengalaman empiris saja (Widjaja, 1982). Untuk itu diperlukan pendekatan ilmiah guna membawa obat tradisional ke dalam praktik kedokteran dan pelayanan kesehatan formal.

Kondisi ini membuat obat-obatan tradisional mendapat prioritas cukup besar untuk dikembangkan guna menunjang kemandirian dalam pengadaan obat yang sangat diperlukan dalam upaya pemerataan pelayanan kesehatan. Untuk keperluan tersebut, perlu diambil langkah-langkah pengembangan obat tradisional yang meliputi (6):

1. Penilaian dan pengujian khasiat obat tradisional secara ilmiah
2. Penelitian dan pengembangan obat tradisional

3. Pembudidayaan dan pelestarian sumber bahan obat alam

Beberapa tumbuhan di Indonesia telah diketahui mempunyai efek anti fertilitas (keluarga berencana) dengan bahan aktif anti fertilitas yang umumnya berupa steroid, contohnya ialah diosgenin, hekogenin, stigmasterol (Tati Herlina, 2008). Sudah terkoleksi 87 spesies tumbuhan di Indonesia yang dipakai kaum wanita untuk tujuan kontrasepsi. Sekitar 50 spesies telah diteliti efek antifertilitas pada hewan coba betina dan manusia. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa tumbuhan itu dapat bersifat sebagai anti gonadotropik, anti implantasi, anti ovulasi, dan akibat dari berbagai sifat tersebut adalah penurunan jumlah kelahiran (Syahrudin, 1994).

Salah satu tanaman obat tradisional yang sering digunakan adalah *Tristania sumatrana* Miq (kayu kasai). Tumbuhan ini dipakai sebagai obat kontrasepsi untuk wanita di daerah Sumatera Barat, terutama di desa Lembah Bawan Kecamatan Lubuk Basung Kabupaten Agam dan di desa Kampung Dalam Kabupaten Padang Pariaman (Yarneli Gani, 1988).

Hasil survei di desa Lembah Bawan diperoleh keterangan bahwa para ibu yang ingin menjarangkan anaknya (KB) meminum air seduhan kulit *Tristania sumatrana* Miq (kayu kasai). Setelah meminum air seduhan kulit kayu kasai biasanya mereka tidak mengalami menstruasi. Cara penggunaannya ialah dengan membuat seduhan kulit kayu kasai yang sudah kering, kemudian airnya diminum sekali dalam dua hari setelah masa menstruasi selama 10-14 hari (Yarneli Gani, 1988). Ekstrak Kayu Kasai (*Tristania sumatrana* Miq) dapat memperpanjang siklus estrus mencit putih (*Mus musculus*) menjadi sebelas hari. Sedangkan satu siklus estrus mencit yang normal adalah 4-5 hari (Yarneli Gani, 1988). Fenomena tersebut merupakan petunjuk tentang adanya suatu gangguan sistem reproduksi pada hewan coba setelah pemberian ekstrak kayu kasai. Suatu substansi tumbuhan

yang dapat menunjukkan aktivitasnya sebagai bahan anti fertilitas pada hewan betina, umumnya berkaitan dengan kemampuan dalam mengintervensi sistem reproduksi yang meliputi organ-organ hipotalamus, hipofisis anterior dan ovarium (Syahrums, 1994).

Berdasarkan analisis kimiawi kulit batang *Tristania sumatrana* Miq. (kayu kasai) dapat diisolasi steroid (Widjaja, 1982). Jenis senyawa steroid tersebut adalah β -sitosterol dan stigmasterol. Kedua senyawa tersebut dapat dipakai sebagai zat anti fertilitas.

Hipotesis. PENCEKOKAN ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. (kayu kasai) pada mencit betina galur Swiss Webster dapat: a) Menurunkan jumlah folikel primer dan sekunder; b) Menurunkan jumlah folikel tersier.

Tujuan penelitian ini ialah mengetahui pengaruh pencekoker ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. (kayu kasai) terhadap fertilitas mencit betina yang meliputi: a) Menurunkan jumlah folikel primer dan sekunder; b) Menurunkan jumlah folikel tersier

Penelitian tentang pencekoker ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. (kayu kasai) terhadap fertilitas mencit betina, diharapkan bermanfaat: 1) Memberikan informasi tentang pencekoker ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. (kayu kasai) terhadap fertilitas; 2) Memberikan informasi untuk menjejaki kemungkinan penggunaan *Tristania sumatrana* Miq. (kayu kasai) sebagai bahan baku untuk obat kontrasepsi (keluarga berencana).

II. METODE PENELITIAN

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit betina *Mus musculus* L. galur Swiss Webster sebanyak 80 ekor. Mencit betina 40 ekor untuk perlakuan dan mencit jantan 40 ekor sebagai pejantan untuk membuktikan pengaruh perlakuan. Mencit yang digunakan berasal dari bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Mencit jantan dan betina diletakkan dalam kandang yang terpisah pada rak yang agak berjauhan dalam ruangan

berventilasi cukup. Suhu ruangan sekitar 24-31°C dan pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap.

Makanan dan minuman diberikan secara tidak terbatas dan diganti setiap hari. Kandang dibersihkan dan alas diganti sekali seminggu kecuali bila alas kandang berbau. Makanan mencit berupa makanan baku berbentuk pelet berwarna kuning kecoklatan yang dibeli di bagian Patologi Anatomi FK-UI. Air minum yang diberikan adalah air PAM.

Bahan Kimia yang digunakan antara lain: fiksatif Bouin untuk fiksasi organ ovarium, eter untuk mematikan hewan percobaan, parafin untuk infiltrasi dan pencetakan (blocking) sediaan histologi ovarium, giemsa untuk pewarnaan sediaan apus vagina, benzil benzoat untuk menghilangkan sisa alkohol dalam ovarium, serial alkohol 50%, 70%, 80%, 95%, dan 100% untuk menghilangkan air (dehidrasi) dari ovarium, larutan Hema toksilin-Eosin untuk pewarnaan sediaan histologi ovarium, akuades, akuabides, albumin untuk melekatkan spesimen ke kaca obyek dan xylol untuk menjernihkan sediaan histologi.

Alat-Alat Percobaan. Kandang hewan percobaan terbuat dari plastik berukuran 30 x 25 x 35 cm³. Tutup kandang terbuat dari anyaman kawat dengan lekukan ke bawah untuk meletakkan makanan. Botol minum bertutup karet dengan pipa kaca yang ujungnya berlubang. Botol minum diletakkan di antara anyaman kawat. Alas kandang diberi serbuk gergaji. Satu set alat ekstraksi: rotary vacuum evaporator, penangas air, neraca Sartorius tipe 4202 dengan ketelitian 0,1 mg, gelas piala, aluminium foil, pipet tetes, alat penggiling Milley Mill. Seperangkat alat untuk pembuatan sediaan apus vagina: kawat ose, gelas ukur 25 ml dan kaca objek. Satu set alat bedah; satu set alat pembuatan dan pengamatan preparat: mikrotom, botol-botol berukuran 30 ml untuk tempat fiksasi, bak pewarna (staining jar), mikroskop cahaya, timbangan mencit yaitu Triple Bean Balance OHAUSS Scale Corp. Union N.J USA no. 2610 dengan ketelitian 0,1g dan sonde.

Rancangan penelitian merupakan rancangan acak kelompok berpola faktorial 5 x 2 dengan dua variabel bebas. Variabel bebas pertama adalah dosis dengan 5 perlakuan. Variabel bebas kedua adalah lama Pencekohan dengan 2 perlakuan. Untuk lebih jelasnya, macam perlakuan yang diberikan pada hewan coba betina dapat dilihat pada Tabel 1.

Table 1. Distribution of animal experiments based on kinds of treatment

Factor	B					
	Stage	b 1	b 2	b 3	b 4	b 5
A	a 1	a 1 b 1	a 1 b 2	a 1 b 3	a 1 b 4	a 1 b 5
	a 2	a 2 b 1	a 2 b 2	a 2 b 3	a 2 b 4	a 2 b 5

Legend :	a1b1 : 600 mg / kg bw of 10 days
A : long treatment	a1b2 : 900 mg / kg bw of 10 days
a1 : treatment of 10 days	a1b3 : 1200 mg / kg bw of 10 days
a2 : treatment of 20 days	a1b4 : control treatment with CMC 1% of 10 days
B : dose	a1b5 : control without treatment of 10 days
b1 : treatment dose 600 mg / kg bw	a2b1 : 600 mg / kg bw of 20 days
b2 : treatment dose 900 mg / kg bw	a2b2 : 900 mg / kg bw of 20 days
b3 : treatment dose 1200 mg / kg bw	a2b3 : 1200 mg / kg bw of 20 days
b4 : positive control of CMC 1 %	a2b4 : control treatment with CMC 1% of 20 days
b5 : negative control	a2b5 : control without treatment of 20 days

Perlakuan. Mencit yang diberi perlakuan adalah yang betina. Sesuai dengan rancangan percobaan, maka perlakuan dibagi menjadi 10 kelompok seperti yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Jumlah ulangan untuk tiap perlakuan ditentukan menggunakan rumus Federer yaitu:

$(t-1)(n-1) \geq 15$, dengan t = jumlah perlakuan ($5 \times 2 = 10$) dan n = jumlah ulangan.

Jumlah perlakuan dalam penelitian ini adalah 10, maka jumlah ulangan minimum tiap perlakuan adalah 3 kali. Untuk menghindari kemungkinan lain yang tidak dikehendaki seperti hewan coba mati saat perlakuan, maka ulangan dilakukan 4 kali.

Hewan percobaan mencit betina yang dipakai adalah yang sehat, belum pernah bunting, memiliki siklus estrus yang teratur 4-5 hari. Berat badannya 20-30 g dan berumur 2-3 bulan. Mencit jantan yang dipakai adalah yang sehat, fertil, berat badan 20-35 g, dan berumur 2,5-3 bulan.

Untuk memilih hewan coba betina dilakukan pemeriksaan apus vagina setiap hari pada waktu yang sama selama 3 siklus estrus. Mencit dengan

siklus estrus yang teratur 4-5 hari ditetapkan sebagai hewan coba.

Setelah diperoleh 40 ekor hewan coba dengan siklus estrus normal, kemudian dikelompokkan secara acak ke dalam 10 kandang. Setiap kandang berisi 4 ekor mencit sesuai dengan banyak ulangan.

Tahap penyesuaian. Penyesuaian hewan percobaan berlangsung selama 2 minggu untuk membiasakannya hidup dalam lingkungan kandang baru. Keadaan fisik dan berat badan hewan percobaan diperiksa setiap dua hari.

Pembuatan sediaan apus vagina: kawat ose disterilkan dengan cara memanaskan menggunakan lampu spiritus, kemudian dicelupkan ke alkohol 70%. Kawat ose yang sudah dingin dimasukkan ke dalam lubang vagina untuk mengambil sekret epitel vagina dengan memutar kawat ose dengan halus dan lembut. Kawat ose yang sudah mengandung sekret epitel vagina dipulaskan hingga rata pada gelas objek yang sebelumnya sudah ditetesi akuades, dikeringkan dalam suhu kamar. Fiksasi menggunakan alkohol 95 % beberapa tetes, kemudian dikeringkan dalam suhu kamar. Preparat diwarnai menggunakan giemsa yang dilarutkan dalam akuades dengan perbandingan 1 ml akuades: 1 tetes Giemsa selama 15-20 menit. Preparat dicuci dengan air mengalir, setelah itu dikeringkan dalam suhu kamar. Preparat diamati menggunakan mikroskop.

Dosis awal yang dipakai dalam penelitian ini adalah 600 mg/kg bb (b1), karena dosis 300 mg/kg bb belum menampakkan hasil yang nyata. Kemudian pada kelompok perlakuan berikutnya, dosis ditingkatkan menjadi 900 mg/kg bb (b2) dan 1200mg/kg bb (b3). Volume ekstrak untuk sekali cecok adalah 0,20 ml.

Pencekohan ekstrak kulit kayu *Tristania sumatrana* Miq. Pada hewan coba dilakukan selama 10 hari pada lima kelompok pertama, pada lima kelompok lain diperpanjang menjadi 20 hari.

Peningkatan dosis dan perpanjangan waktu Pencekakan bertujuan untuk lebih meyakinkan efek perlakuan terhadap hewan coba. Selain itu, untuk menentukan dosis dan lama pencekokan yang efektif untuk menekan fertilitas.

Pembuatan ekstrak kulit kayu *Tristania sumatrana* Miq. diperoleh di Lembah Bawan Kecamatan Lubuk Basung Kabupaten Agam Sumatera Barat. Pembuatan ekstrak kulit Kayu *Tristania sumatrana* Miq. dengan cara mengambil 100 gr serbuk kulit kayu *Tristania sumatrana* Miq. kemudian dilarutkan dalam 1 L etanol 95% selama 24 jam (maserasi). Ekstrak yang terbentuk dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* (rovapor). Ekstrak pekat yang diperoleh diuapkan dengan penangas air sambil diaduk sampai ekstrak kering (39), kemudian ekstrak dari kulit kayu *Tristania sumatrana* Miq. siap untuk dibuat larutan sesuai dosis.

Dosis 600 mg/kg bb dibuat dengan cara melarutkan ekstrak kulit kayu *Tristania sumatrana* Miq. sebanyak 15,024 mg dalam 0,2 ml CMC 1%. Perhitungannya sebagai berikut: berat rata-rata mencit betina galur Swiss Webster umur 2,5-3 bulan setelah penimbangan adalah 25,04 g. banyak ekstrak yang dipakai untuk dosis 600 mg/kg bb ditentukan dengan perhitungan $25,04/1000 \times 60 = 15,024$ mg. Cara yang sama juga dilakukan dalam menentukan banyak ekstrak yang dipakai pada dosis 900 dan 1200 mg/kg bb. Dosis 900 mg/kg bb dibuat dengan cara melarutkan ekstrak kulit kayu *Tristania sumatrana* Miq. Sebanyak 22,536 mg dalam 0,2 ml 1% CMC. Dosis 1200 mg/kg bb dibuat dengan cara melarutkan ekstrak kulit kayu *Tristania sumatrana* Miq. Sebanyak 30,048 mg dalam 0,2 ml 1% CMC.

Pencekakan dilakukan setiap pagi pukul 08.00 WIB. Pencekakan dimulai pada stadium diestrus untuk hewan coba yang dicekok 10 hari dan pada stadium estrus untuk hewan coba yang dicekok 20 hari. Hewan percobaan dikelompokkan seperti pada Tabel 1.

Pembuatan sediaan histologi ovarium: fiksasi, dehidrasi, pembedahan, pembenaman organ ovarium dalam parafin, pencetakan organ ovarium dalam parafin, pemotongan, pewarnaan.

Kerja obat anti fertilitas pada makhluk hidup betina dapat dibagi menjadi beberapa tujuan, antara lain mencegah pematangan sel telur, mencegah terjadinya ovulasi, dan menghalangi fertilisasi (1). Parameter yang diteliti dari pemberian ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. terhadap hewan coba adalah: 1) Jumlah folikel primer dan sekunder; folikel primer dan sekunder dipelajari melalui preparat histologi ovarium dan 2) Jumlah folikel tersier; folikel tersier dipelajari melalui preparat histologi ovarium

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan diuji normalitasnya menggunakan metode Shapiro dan Wilk. Homogenitas data dengan uji Barlett (44). Bila kedua uji tersebut terpenuhi, maka data populasi berdistribusi normal dan variasinya homogen, kemudian dilanjutkan dengan uji Anova dua arah (45). Apabila tidak terpenuhi kenormalan dan homogenitasnya maka dilakukan

transformasi $\sqrt{x + \frac{1}{2}}$ pada dianalisis dengan statistik non parametrik Friedman (45, 46, 47). Apabila berdasarkan uji Friedman terdapat perbedaan yang nyata maka analisis data diteruskan dengan uji Friedman Lanjutan.

III. HASIL PENELITIAN

3.1 Jumlah Folikel Primer dan Sekunder

Hasil perhitungan folikel primer dan sekunder pada ovarium mencit kiri dan kanan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah Folikel Primer dan Sekunder setelah Dicekok dengan Ekstrak *Tristania sumatrana* mig. pada Dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb selama 10 dan 20 Hari

Group	600/10	900/10	1200/10	PC/10	NC/10	600/20	900/20	1200/20	PC/20	NC/20	
Repeat	1	19	10	13	16	32	27	9	8	24	28
	2	11	79	12	31	18	17	25	14	23	25
	3	16	16	13	21	38	23	8	9	32	34
	4	19	18	6	30	14	11	11	12	24	34
Avg	16.25	15.75	11.00	24.50	25.50	19.50	13.25	10.75	25.75	30.25	
SD	3.27	3.49	2.92	6.27	9.84	6.06	6.87	2.39	3.63	3.90	

Hasil uji normalitas menurut Shapiro & Wilk dan uji homogenitas menurut Bartlett menunjukkan bahwa data jumlah folikel primer dan sekunder berdistribusi normal dengan variasi homogen. Lihat Tabel 4.

Tabel 4. Uji Berganda BNT Jumlah Folikel Primer dan Sekunder untuk Kombinasi Pencekokan Ekstrak *Tristania sumatrana mig.* antara Dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb dengan Lama Pencekokan 10 dan 20 hari

Dosis	NT	600/10	900/10	1200/10	PC/10	NC/10	600/20	900/20	1200/20	PC/20	NC/20
600/10	18.75	-									
900/10	18.25	0.50	-								
1200/10	13.50	5.25	4.75	-							
PC/10	27.00	8.25	8.75*	13.50**	-						
NC/10	28.00	9.25*	9.75*	14.50**	1.00	-					
600/20	24.50	5.75	6.26	11.00*	2.50	3.50	-				
900/20	18.25	0.50	0.00	4.75	8.75*	9.75*	6.25	-			
1200/20	15.75	3.00	2.50	2.25	11.25*	12.25**	8.75*	2.50	-		
PC/20	30.75	12.00**	12.50**	17.25**	3.75	2.75	6.25	12.50**	15.00**	-	
NC/20	35.25	16.50**	17.00**	21.75**	8.25	7.25	10.75*	17.00**	19.50**	4.50	-

Keterangan : * = p < 0,05 ; ** = p < 0,01 P tabel 5% = 8,56 ; 1% = 11,68

Berdasarkan data, dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan jumlah folikel primer dan sekunder yang sangat bermakna ($P < 0,01$) untuk dosis pencekok 600, 900 dan 1200 mg/kg bb selama 10 dan 20 hari (T1). Berdasarkan uji berganda BNT untuk T1 (Tabel 5) diperoleh perbedaan jumlah folikel primer dan sekunder yang sangat bermakna ($P < 0,01$) antara kelompok perlakuan yang dicekok dengan ekstrak *Tristania sumatrana Mig.* pada dosis 600 m/kg bb dengan 1200 mg/kg bb selama 10 dan 20 hari, dan sebaliknya tidak ada perbedaan yang bermakna. Demikian pula antara KP dibandingkan dengan KTP terdapat perbedaan jumlah folikel primer dan sekunder yang tidak bermakna ($P > 0,05$).

Tabel 5. Uji Berganda BNT Jumlah Folikel Primer dan Sekunder untuk Pencekokan Ekstrak *Tristania sumatrana mig.* pada Dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb selama 10 dan 20 Hari

Dosis	NT	600	900	1200	PC	NC
600	21.63	-				
900	18.25	3.38	-			
1200	14.63	7.00*	3.63	-		
PC	28.88	7.25*	10.63**	14.25**	-	
NC	31.63	10.00**	13.38**	17.00**	2.75	-

Keterangan : * = P < 0,05 ; ** = P < 0,01 P tabel 5% = 6,11 ; 1% = 8,26

Selain itu, antara kelompok yang dicekok dengan ekstrak *Tristania sumatrana Mig.* selama 10 hari dibanding dengan kelompok yang dicekok selama 20 hari pada dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb terdapat perbedaan jumlah folikel primer dan sekunder yang tidak bermakna ($P > 0,05$). Demikian pula antara dosis dengan lama pencekokan (T1T2) ekstrak *Tristania sumatrana Mig.* tidak berinteraksi secara bermakna ($P > 0,05$) dalam menurunkan jumlah folikel primer dan sekunder (lampiran 6).

3.2 Jumlah Folikel Tersier

Hasil perhitungan jumlah folikel tersier pada ovarium mencit sebelah kiri dan kanan disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Jumlah Folikel Tersier Setelah Dicekok dengan Ekstrak *Tristania sumatrana Mig.* pada Dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb Selama 10 dan 20 Hari

Group	600/10	900/10	1200/10	PC/10	NC/10	600/20	900/20	1200/20	PC/20	NC/20	
Repeat	1	19	10	13	16	32	27	9	8	24	28
	2	11	79	12	31	18	17	25	14	23	25
	3	16	16	13	21	38	23	8	9	32	34
	4	19	18	6	30	14	11	11	12	24	34
Avg	16.25	15.75	11.00	24.50	25.50	19.50	13.25	10.75	25.75	30.25	
SD	3.27	3.49	2.92	6.27	9.84	6.06	6.87	2.39	3.63	3.90	

Hasil uji normalitas menurut Shapiro & Wilk dan uji homogenitas menurut Bartlett (lampiran 7 dan 8) menunjukkan bahwa data jumlah folikel tersier berdistribusi normal dengan variasi homogen.

Tabel 7. Uji Berganda BNT Jumlah Folikel Tersier untuk Kombinasi Pencekokan Ekstrak *Tristania sumatrana mig.* antara Dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb dengan Lama Pencekokan 10 dan 20 Hari

Dosis	NT	600/10	900/10	1200/10	PC/10	NC/10	600/20	900/20	1200/20	PC/20	NC/20
600/10	7.75	-									
900/10	7.00	0.75	-								
1200/10	7.25	0.50	0.25	-							
PC/10	10.75	3.00	3.75	3.50	-						
NC/10	11.75	4.00	4.75*	4.50	1.00	-					
600/20	10.25	2.50	3.25	3.00	0.50	1.50	-				
900/20	8.00	0.25	1.00	0.75	2.75	3.75	2.25	-			
1200/20	7.00	0.75	0.00	0.25	3.75	4.75*	3.25	1.00	-		
PC/20	16.25	8.50**	9.25**	9.00**	5.50*	4.50	6.00*	8.25**	9.25**	-	
NC/20	14.25	6.50**	7.25**	7.00**	3.50	2.50	4.00	6.25*	7.25**	2.00	-

Keterangan : * = P < 0,05 ; ** = P < 0,01 P tabel 5% = 4,68 ; 1% = 6,32

Berdasarkan data, terdapat perbedaan jumlah folikel tersier yang sangat bermakna ($P < 0,01$) untuk dosis pencekokan 600, 900 dan 1200 mg/kg bb selama 10 dan 20 hari (T1). Berdasarkan uji berganda BNT untuk T1 (Tabel 8) diperoleh perbedaan jumlah folikel tersier yang sangat bermakna ($P < 0,01$) antara kelompok perlakuan yang dicekok dengan ekstrak *Tristania sumatrana Mig.* dengan dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb selama 10 dan 20 hari dibandingkan dengan KP dan KTP. Terdapat perbedaan jumlah folikel tersier yang tidak bermakna ($P > 0,05$) antara kelompok yang dicekok dengan ekstrak *Tristania sumatrana Mig.* antara dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb selama 10 dan 20 hari. Demikian pula antara KP dibandingkan dengan KTP terdapat perbedaan jumlah folikel tersier yang tidak bermakna ($P > 0,05$).

Tabel 8. Uji Berganda BNT Jumlah Folikel Tersier untuk PENCEKOKAN Ekstrak *Tristania sumatrana mig* pada Dosis 600, 900, 1200 mg/kg bb selama 10 dan 20 Hari

Dosis	NT	600	900	1200	PC	NC
600	9.00	-				
900	7.50	1.50	-			
1200	7.13	1.88	0.38	-		
PC	13.50	4.50*	6.00**	6.38**	-	
NC	13.00	4.00*	6.50**	5.88**	0.50	-

Keterangan : * = P < 0,05 ; ** = P < 0,01 P tabel 5% = 3,31 ; 1% = 4,47

Berdasarkan data, terdapat perbedaan jumlah folikel tersier yang bermakna ($P < 0,05$) untuk lama pencekokan (T2). Berdasarkan uji berganda BNT untuk lama pencekokan (T2) menunjukkan perbedaan jumlah folikel tersier yang sangat bermakna ($P < 0,01$) antara kelompok yang dicekok dengan ekstrak *Tristania sumatrana Mig.* selama 10 hari dibandingkan dengan kelompok yang

dicekok selama 20 hari pada dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb (Tabel 9).

Tabel 9. Uji Berganda BNT Jumlah Folikel Tersier untuk Lama PENCEKOKAN 10 dan 20 Hari pada Dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb

Lama PENCEKOKAN	NT	10	20
10	22.25	-	
20	27.88	5.63**	-

Keterangan : ** = P < 0,01 P tabel 5% = 2,09 ; 1% = 2,83

Antara tingkatan dosis dengan lama pencekokan (T1T2) ekstrak *Tristania sumatrana Mig.* tidak berinteraksi secara bermakna ($P > 0,05$) dalam menurunkan jumlah folikel tersier .

1. PEMBAHASAN

4.1 Perkembangan Folikel

Hasil uji anova dua arah menunjukkan perbedaan berat ovarium, folikel dan korpus luteum yang sangat bermakna pada kombinasi pencekokan ekstrak *Tristania sumatrana Mig.* Pada dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb dengan lama pencekokan 10 dan 20 hari.

Berdasarkan uji BNT-nya menunjukkan bahwa sebagian besar pencekokan ekstrak *Tristania sumatrana Mig.* Pada dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb selama 10 dan 20 hari dibandingkan dengan KP atau KTP terjadi penurunan yang bermakna terhadap berat ovarium, jumlah folikel primer, sekunder, tersier, Graaf dan korpus luteum.

Dengan demikian, berarti ovarium mengalami suatu gangguan yang mungkin sekali disebabkan perlakuan. Penurunan berat ovarium mungkin disebabkan berkurangnya komponen tertentu seperti folikel (Mahima Sharma, 2017). *Tristania sumatrana Mig.* diketahui mengandung steroid dari golongan β – sitosterol dan stigmasterol. Steroid merupakan salah satu faktor yang dapat menghambat perkembangan folikel melalui penekanan kadar FSH. Tumbuhan yang mengandung steroid umumnya bersifat estrogenik sehingga dapat mempengaruhi siklus menstruasi dan perkembangan folikel (Gahlot, 2017).

Penurunan jumlah folikel-folikel ini mungkin disebabkan steroid β -sitosterol dan stigmasterol dari *Tristania sumatrana* Miq. mengganggu keseimbangan poros hipotalamus, hipofisis dan ovarium. Steroid β -sitosterol dan stigmasterol diduga menyebabkan naiknya kadar estrogen dalam darah, sehingga menghambat sekresi FSH dan LH. FSH berfungsi mengatur perkembangan dan jumlah folikel (Azadeh Hamedi & Farzaneh Abbasi, 2015). Menurunnya kadar FSH dapat menyebabkan perkembangan folikel terhambat mulai dari folikel primer, sekunder, tersier dan Graaf (Vanithakumari, 1992).

Dugaan ini sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa terjadi penurunan yang bermakna terhadap jumlah folikel primer, sekunder, tersier, Graaf dan korpus luteum dibandingkan kedua kontrolnya. Berkurangnya berat ovarium mungkin sekali disebabkan menurunnya jumlah folikel primer, sekunder, tersier dan Graaf. Berat ovarium akan menurun apabila terjadi hambatan perkembangan folikel (Zambarana, 1991).

Kemungkinan lain adalah zat aktif yang dikandung *Tristania sumatrana* Miq. langsung menghambat perkembangan folikel pada ovarium. Hal ini terlihat dengan menurunnya jumlah folikel primer dan sekunder.

Penurunan jumlah folikel-folikel tersebut di atas, diduga pada pencekokan 600 mg/kg bb selama 10 hari, telah mencapai pengaruh optimal terhadap berat ovarium, jumlah folikel primer, sekunder, tersier, Graaf dan korpus luteum. Dengan demikian peningkatan dosis pencekokan menjadi 900 dan 1200 mg/kg bb dan penambahan lama pencekokan menjadi 20 hari tidak berarti lagi terhadap penekanan beberapa parameter di atas. Respon obat dalam tubuh organisme merupakan suatu kurva sinusoid dimana peningkatan dosis akan mengakibatkan peningkatan respon dari organisme (Meffin, 1990). Akan tetapi, pada dosis di atas optimal kurva tidak

naik lagi secara eksponensial akan tetapi cenderung linear.

Dosis optimal mungkin juga terjadi karena senyawa aktif yang dikandung *Tristania sumatrana* Miq. Melebihi jumlah reseptor spesifiknya (Kumud Tanwar, 2015). Walaupun konsentrasi β – sitosterol dan stigmasterol dalam tubuh sangat tinggi akan tetapi tidak dapat membentuk kompleks dengan reseptor untuk dibawa ke sel sasaran. Dengan demikian peningkatan kadar steroid β – sitosterol dan stigmasterol dalam plasma darah melalui peningkatan dosis atau lama pencekokan belum tentu menambah efektivitasnya.

Interaksi antara dosis dengan lama pencekokan (T1T2) tidak bermakna untuk semua parameter. Peningkatan dosis (dari 600 menjadi 900 dan 1200 mg/kg bb) dan lama pencekokan (10 dan 20 hari) ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. tidak saling tergantung dalam mempengaruhi berat ovarium, jumlah folikel primer, sekunder, tersier, Graaf dan korpus luteum.

4.2 Jumlah Folikel Tersier

Hasil uji anova dua arah menunjukkan perbedaan jumlah folikel atresia yang sangat bermakna pada kombinasi pencekokan ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. pada dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb selama 10 dan 20 hari.

Berdasarkan uji BNT-nya menunjukkan bahwa ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. pada dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb selama 10 dan 20 hari dibandingkan dengan KP atau KTP dapat meningkatkan jumlah folikel atresia secara sangat bermakna.

Pencekokan ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. diduga mempengaruhi proses hipotalamus-hipofisis-ovarium melalui penekanan FSH. FSH juga berfungsi untuk mengatur aromatisasi androgen menjadi estradiol dalam sel granulosa (24, 29). Rendahnya FSH menyebabkan folikel mengalami penurunan produksi estrogen karena aromatisasi androgen yang tidak optimal. Akibatnya androgen dalam folikel menjadi tinggi. Androgen

yang tinggi dalam folikel merupakan penyebab utama atresia (28).

Kemungkinan penyebab folikel atresia yang lain adalah sel-sel folikel kekurangan reseptor hormon (19). Kekurangan reseptor dapat terjadi karena reseptor yang ada sudah diduduki oleh senyawa aktif dari *Tristania sumatrana* Miq.

Dengan demikian hipotesis 6 “Pencekakan ekstrak kulit kayu kering *Tristania sumatrana* Miq. (kayu kasai) pada mencit betina galur Swiss Webster dapat meningkatkan jumlah folikel atresia”, dapat diterima.

Analisis statistik menunjukkan pula bahwa interaksi antara dosis dengan lama pencekakan tidak bermakna (lampiran 15). Keadaan ini berarti antara dosis dengan lama pencekakan tidak saling mempengaruhi terhadap parameter jumlah folikel atresia.

Berdasarkan uji Friedman lanjutan menunjukkan, bahwa sebagian besar pencekakan ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. pada dosis 600, 900 dan 1200 mg/kg bb selama 10 dan 20 hari dibandingkan dengan control dapat menurunkan jumlah fetus hidup secara bermakna.

Berdasarkan analisis yang telah dilakukan terhadap folikel diduga β – sitosterol dan stigmasterol yang berasal dari ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. menekan jumlah folikel primer, sekunder, tersier dan Graaf, sebaliknya meningkatkan folikel atresia secara bermakna. Berkurangnya jumlah folikel-folikel di atas dan meningkatnya atresia dapat menyebabkan sedikitnya ovulasi yang ditunjukkan dengan penurunan secara sangat bermakna jumlah korpus luteum. Sebagai konsekuensinya akan memperkecil jumlah fertilisasi, sehingga dapat mengurangi jumlah fetus, dan dengan demikian hipotesis 7 dapat diterima.

Pencekakan ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. 1200 mg/kg bb selama 20 hari ternyata belum memperlihatkan gejala toksisitas maupun teratogenik terhadap perkembangan fetus. Seperti diketahui bahwa zat yang bersifat toksik maupun teratogen dapat menyebabkan kematian

embrio (resorpsi fetus) (52). Sebagai konsekuensinya resorpsi tidak meningkat secara bermakna dibandingkan dengan kedua kontrolnya, oleh karena itu hipotesis 8 ditolak.

Peningkatan dosis pencekakan ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. dari 600 menjadi 900 dan 1200 mg/kg bb dan penambahan lama pencekakan dari 10 menjadi 20 hari memperlihatkan perbedaan jumlah fetus yang tidak bermakna dibandingkan dengan perlakuan pada dosis 600 mg/kg bb selama 10 hari. Seperti yang telah dikemukakan terdahulu bahwa perlakuan pada dosis 600 mg/kg bb selama 10 hari sudah optimum, akibatnya untuk peningkatan dosis dan lama pencekakan secara statistik tidak lagi berpengaruh terhadap penurunan jumlah fetus.

Interaksi antara dosis dengan lama pencekakan (T1T2) tidak bermakna untuk parameter jumlah fetus. Ini berarti, bahwa antara peningkatan dosis (dari 600 menjadi 900 dan 1200 mg/kg bb) dan lama pencekakan (10 dan 20 hari) ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. tidak saling tergantung dalam mempengaruhi jumlah fetus.

IV. KESIMPULAN

Pencekakan ekstrak *Tristania sumatrana* Miq. dengan dosis 600, 900, 1200 mg/kg bb selama 10 dan 20 hari, menyebabkan penurunan jumlah folikel primer, sekunder dan jumlah folikel tersier

PUSTAKA

Azadeh Hamedi, Mohhammad Javad Khoshnoud, Nader Tanideh,, & Farzaneh Abbasi, Masood Fereidoonzhad, and Davood Mehrabani. (2015). Reproductive Toxicity of Cassia Absus Seeds In Female Rats: Possible Progesteronic Properties of Chaksine and B-Sitosterol. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 49(4), 268-274.

- Gahlot, Divaker Shukla and Kavita. (2017). Pharmacognostical Standardization and Phytochemical Screening of Bauhinia Vahlia Leaves. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(8), 2635-2643.
- Kumud Tanwar, Jaya Mathur and J.B.S.Kachhawa. (2015). Phytochemical Investigation and Anti-Fertility Activity of Lichen Parmelia Perlata *International Journal of Recent Research and Review*, 8(4).
- Mahima Sharma, Dharmendra Arya, Kiran Bhagour, R.S. Gupta. (2017). Natural Aphrodisiac and Fertility Enhancement Measures in Males. *Current Medicine Research and Practice*, 1-9.
- Meffin. (1990). Fundamental of clinical pharmacology, how drug act. *Medical Progres*, 51(1), 64-71.
- Syahrum, Muhamad Hatta. (1994). Sistem Reproduksi Betina. *Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*, 25-37.
- Tati Herlina, Unang Supratman, Ukun M.S. Soedjanaatmadja. (2008). Biologically active natural products from Indonesian Erythrina plants *Proceeding of The International Seminar on Chemistry*1(1), 204-207.
- Vanithakumari, T. Malini and G. (1992). Comparative Progesterone Study of The Effects of Beta-Sitosterol, Estradiol and on Selected Biochemical Parameters of the Uterus of Ovariectomised Rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 36(1), 51-55.
- WHO. (1991). Guidelines for the Assesment of Herbal Medicine, Program on Traditonal Medicine. Geneva.
- Widjaja, H. (1982). Isolasi Steroid dari Kulit Batang Kayu Kasai. *Universitas Andalas*, 34.
- Yarneli Gani, Neti Marusin. (1988). Pengaruh Sari Kayu Kasai terhadap Daur Estrus Mencit. *Universitas Andalas*, 44-48.
- Zambarana. (1991). Ovarium and plasental weight of various number of fetus in the rat. *Bio Reprod*, 4(1), 212-222.