



Potensi Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*), Daun Pepaya (*Carica papaya L*) Serta Kombinasi Kedua Ekstrak Terhadap Jumlah Folikel Primer, Sekunder dan Tersier Pada Mencit (*Mus musculus*)

Sukarjati^{a,1}, Ganda Adi Nugroho^{b,2}

^{a,b} Program Studi Biologi, Universitas PGRI Adi Buana Surabaya, Indonesia
email coresponden author : sukarjati@unipasby.ac.id

ABSTRAK

Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) dan daun Pepaya (*Carica papaya L*) merupakan tanaman yang mengandung metabolit sekunder dan diduga memiliki efek antifertilitas. Daun *V amygdalina* dan daun *C papaya L* mengandung flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Tujuan penelitian ini untuk membuktikan ekstrak daun *V amygdalina*, daun *C papaya L* serta kombinasi kedua ekstrak dapat menurunkan jumlah folikel primer, sekunder dan folikel tersier. Penelitian ini menggunakan 44 mencit betina. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi Dosis ekstrak daun *V amygdalina* dan ekstrak daun *C papaya L* yang digunakan adalah 150 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, 250 mg/kg BB dan dosis kombinasi ekstrak daun Afrika dan daun Pepaya yaitu 75:75 mg/kg BB, 100:100 mg/kg BB, dan 125:125 mg/kg BB. Kontrol positif menggunakan KB Andalan dengan dosis 0,000078 mg. Pembuatan preparat histologi ovarium sesuai standart laboratorium. Data dianalisis dengan uji One-Way ANOVA dan uji LSD. Hasil penelitian menunjukkan pemberian ekstrak daun *V amygdalina* daun *C papaya*, serta kombinasinya berpengaruh nyata terhadap penurunan jumlah folikel primer ($P= 0.03$), folikel sekunder ($P=0,032$) dan folikel tersier ($P=0,033$). Ekstrak kombinasi daun *V amygdalina* dan daun *C papaya* dosis 125:125 mg/kg BB paling berpotensi sebagai bahan kontrsepsi alami.

ABSTRACT

African leaf (*Vernonia amygdalina*) and papaya leaf (*Carica papaya L*) are plants that contain secondary metabolites and are thought to have antifertility effects. *V amygdalina* and *C papaya L* leaves contain flavonoids, saponins, tannins, and alkaloids. The purpose of this study was to prove that *V amygdalina* leaf extract, *C papaya L* leaf and the combination of the two extracts could reduce the number of primary, secondary and tertiary follicles. This study used 44 female mice. Extraction was carried out by maceration . The doses of *V amygdalina* leaf extract and *C papaya L* leaf extract used were 150 mg/kg BW, 200 mg/kg. kg BW, 250 mg/kg BW and the combined doses of *V amygdalina* leaf extract and *C papaya* leaf were 75:75 mg/kg BW, 100:100 mg/kg BW, and 125:125 mg/kg BW. The positive control used KB Andalan with a dose of 0.000078 mg. Ovarian histology was made according to laboratory standards Data were analyzed using One-Way ANOVA and LSD test. The results showed that the administration of *V amygdalina* leaf extract, *C papaya* leaf, and their combination significantly affected the decrease in the number of primary follicles ($P= 0.03$), secondary follicles ($P=0.032$) and tertiary follicles ($P=0.033$). The combination extract of *V amygdalina* leaf and *C papaya* leaf at a dose of 125:125 mg/kg BW has the most potential as a natural contraceptive ingredient

Sejarah Artikel

Diterima : 03 Desember 2021
Disetujui : 28 Desember 2021

Kata kunci:

Ekstrak, Daun Vernonia amygdalina, Daun Carica papaya L, Folikel Mencit betina, Antifertilitas.

Keywords:

Extract, Vernonia amygdalina Leaf, Carica papaya L leaf, follicle, Mus musculus, Antifertility.

Pendahuluan

Pendahuluan

Negara berkembang menghadapi masalah di bidang kependudukan yaitu pertumbuhan penduduk yang masih tinggi. Ancaman terjadinya ledakan penduduk di Indonesia semakin nyata. Untuk menanggulangi pertumbuhan penduduk tersebut maka diperlukan suatu pengendalian yang sistematis, terarah, dan terukur. Pengendalian penduduk tersebut melalui program Keluarga Berencana (KB). Kontrasepsi didefinisikan sebagai pencegahan konsepsi yang disengaja melalui penggunaan berbagai alat, kegiatan seksual, bahan kimia, obat-obatan, atau pembedahan. Jadi, alat atau tindakan apa pun yang tujuannya untuk mencegah seorang wanita hamil dapat dianggap sebagai kontrasepsi (Garima Mishra, et. al., 2020)

Metode kontrasepsi meliputi: Coitus interruptus, Lactational Amenorrhoe, Rhythm method, male condom, female condome, Pill, Intra uterine Device (IUDs), Tubectomy, Vasectomy (Garima Mishra, et al., 2020). Hormonal, suntikan, implan, Intra Uterine Device (IUD), Tubektomi, Pil, merupakan metode kontrasepsi pada wanita (Santoso, 1993). Beberapa kekurangan metode kontrasepsi tersebut diantaranya: gangguan haid, setelah penghentian pemakaian maka kembalinya kesuburan lama, terjadi perubahan pada lipid serum bila digunakan dalam waktu yang lama, dan vagina menjadi kering, libido menurun, emosi terganggu, kepala menjadi sakit, nervositas, dan menimbulkan jerawat. Pengembangan kontrasepsi dari tanaman dapat merupakan solusi karena Indonesia kaya akan berbagai jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan pengatur fertilitas. Menurut Dalimartha (2000), obat-obatan dari tanaman memiliki beberapa keuntungan diantaranya rendah oksisitasnya, diperolehnya mudah, terjangkau harganya, dan efek samping yang timbulkan tidak ada. Tanaman obat telah memainkan peran penting dalam perkembangan obat baru. Obat-obatan dan bahan kimia dapat mengganggu keadaan normal fungsi siklus reproduksi wanita juga mengganggu morfologi normal organ reproduksi. Studi telah mendokumentasikan peran tanaman obat dalam menginduksi kemandulan pada hewan percobaan, dan kemungkinan perkembangannya menjadi bahan kontrasepsi pada pria dan wanita telah memperoleh perhatian oleh industri farmasi. Diantaranya Ekstrak dari *Quassia amara*, *Azadirachta indica*, gossypol, senyawa fenolik yang diisolasi dari biji kapas dan glikosida yang diekstrak dari xilem *Tripterygium wilfordi*, telah dipelajari dengan baik untuk induksi infertilitas reversibel pada hewan jantan dan betina (Cherian, 2000).

Vernonia amygdalina (*V. amygdalina*) telah dilaporkan memiliki beberapa sifat farmakologis seperti antimikroba, antimalaria, antioksidan, anti diabetes, anti alergi, antibakteri, Aktivitas farmakologis *V. amygdalina* ini telah dikaitkan dengan adanya senyawa bioaktif kompleks (Nweke Elizabeth O. et al., 2019). Menurut Audu *et al.* (2012) *V. amygdalina* mengandung anthraquinones, tannins, flavonoid, alkaloid, saponin, glikosida. Senyawa tersebut mampu menghambat sintesis hormon untuk proses sintesis hormon estrogen.

Pada KB hormonal juga mengandung esterogen sintetis yang berfungsi mengganggu jalur sintesis esterogen dalam tubuh. Menurut Ayele (2006) menunjukkan bahwa tikus betina yang di injeksi dengan 1 g/kg BB, 2g/kg BB dan 3 g/kg BB ekstrak daun *V. amygdalina* menunjukkan hasil signifikan dalam menurunkan jumlah fetus dan persentase angka hidupnya

Pepaya (*Carica papaya*, Linn) dianggap sebagai buah nutraceutical, karena nutrisinya yang luar biasa dan mempunyai khasiat sebagai obat, yang meliputi antibakteri, anti-inflamasi, anti-penuaan, anti-proliferatif, diuretik, anti hipertensi, hipolipidemia, anti cacing, menyembuhkan luka, anti jamur dan anti tumor serta menurunkan radikal bebas yang membantu untuk mengurangi arterosklerosis, stroke, diabetes, dan serangan jantung (Adejoke Elizabeth Memudu and Tayo Jane Oluwole, 2020).

Daun pepaya (*Carica papaya*) menurut Milind dan Gurdita (2011) mengandung alkaloid, papain, saponin, tannin dan violaksantin. Menurut Julaily (2013) bahwa ekstrak daun pepaya memiliki senyawa terpenoid. Menurut Sindhu (2019) tdaun C pepaya mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, *cardiac glycosides*, anthraquinon dan cardenolid. Hasil penelitian Adejoke Elizabeth Memudu and Tayo Jane Oluwole, (2020) menyatakan bahwa pemberian ekstrak biji *Carica papaya* pada tikus dapat menurunkan berat uterin, kadar progesterone serum menurun, terjadi degenerasi sel theca, granulosa dan corpus luteum, siklus estrus menjadi tidak teratur, fase diestrus dan proestrus memanjang. Menurut Charles (2015), ekstrak daun *Carica papaya* yang diinjeksikan sebanyak 100 mg/kg BB, 300mg/kg BB, dan 500 mg/kg BB menunjukkan penurunan tingkat fertilitas dan meningkatkan kematian embrio. Masih sedikit informasi hasil penelitian tentang penggunaan kombinasi ekstrak daun *Vernonia amygdalina* dan daun *Carica papaya* terhadap kualitas folikel. Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan Potensi Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*), Daun Pepaya (*Carica papaya* L) serta Kombinasi Kedua Ekstrak terhadap

Jumlah Folikel Primer, Folikel Sekunder dan Folikel Tersier Mencit (*Mus musculus*) sebagai upaya pencarian kontrasepsi dari bahan alam.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap.

Pembuatan ekstrak

Daun *V amygdalina* diperoleh dari Kebun Percobaan Program Studi Biologi Universitas PGRI adi Buana Surabaya, dan telah dilakukan identifikasi. Daun yang digunakan adalah daun ke 3 sampai ke 8 dari pucuk batang. Daun Pepaya yang digunakan berasal dari Desa Ngaban, Sidoarjo. Daun yang digunakan merupakan daun yang berwarna hijau muda.

Daun *V amygdalina* dan daun *C papaya* yang segar di cuci bersih kemudian dikering anginkan pada suhu kamar sehingga menjadi simplisia. Simplisia Daun *V amygdalina* dan daun *C papaya* dihaluskan dengan cara di blender dan di ayak sehingga diperoleh serbuk halus daun *V amygdalina* dan serbuk halus daun *C papaya*. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. 100 gram serbuk daun *V amygdalina* dibungkus kain putih tipis dan diikat, 100 gram serbuk daun *C papaya* dibungkus dengan kain putih tipis dan diikat. kemudian masing masing dimasukkan toples, dan masing masing di rendam dengan 1000 ml ethanol 80% selama 3 hari. Setelah itu Filtratnya dikentalkan dengan cara dilakukan destilasi suhu 60⁰C.

Preparasi hewan coba

Penelitian ini menggunakan 44 mencit betina sehat berumur 3 bulan dengan berat 27 gr sampai 30 gr yang di beli dari Pusvetma (Pusat Veterinaria) Surabaya. Mencit di diberi makan dan minum (ad libitum) sesuai standar laboratorium dan dipelihara pada kandang standar pada suhu ruang. Mencit di aklimatisasi selama 2 minggu sebelum perlakuan.

Perlakuan

Penelitian ini dilakukan di Laboraturium Program studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas PGRI Adi Buana Surabaya. Sebanyak 44 mencit dibagi 5 kelompok. Kelompok I: control negative, II: control positif, III: Pemberian ekstrak daun *C papaya*, IV:

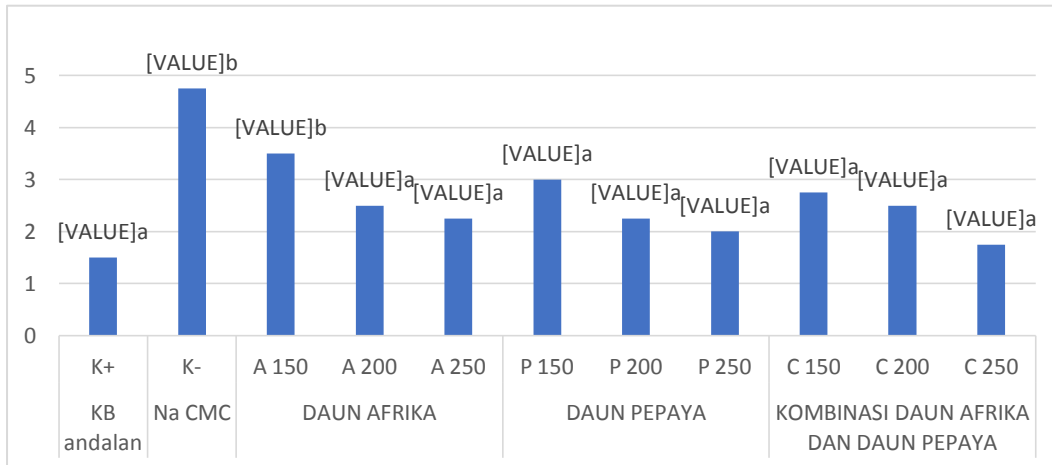
Pemberian ekstrak daun *V amygdalina*, V pemberian Kombinasi kedua ekstrak. Pada Kelompok III, IV dan V masing masing dibagi 3 bagian. Kelompok IIIA. pemberian ekstrak daun *C papaya* dosis 150 mg/kg BB, IIIB. dosis 200 mg/kg BB, IIIC; dosis 250 mg/kg BB, Perlakuan Kelompok IVA: pemberian ekstrak daun *V amygdalina* dosis 150 mg/kg BB, IVB. dosis 200 mg/kg BB, IVC; dosis 250 mg/kg BB, Kelompok VA: pemberian kombinasi ekstrak daun *C papaya*: ekstrak daun *V amygdalina* dengan dosis 75:75 mg/KgBB, Kelompok VB: 100:100 mg/kg BB, VC: 125:125 mg/kg BB. Jadi ada 11 perlakuan. Masing masing perlakuan di ulang 4 kali. Pada Kontrol positif digunakan adalah Pil kontrasepsi merk “Andalan” dengan kandungan ethinylestradiol dan levonorgestrel, dengan dosis 0,000078 mg. Pemberian ekstrak pada mencit menggunakan sonde dengan volume 0,5 ml setiap mencit, dilakukan setiap hari selama 14 hari berturut turut. Pada hari ke 15 semua mencit di matikan dan dibedah serta diisolasi ovariumnya, selanjutnya di buat preparat histologi ovarium menggunakan metode paraffin yang dikerjakan sesuai prosedur standar laboratorium. Pewarnaan yang digunakan adalah Haematoxylin-Eosin. Dilakukan pengamatan jumlah folikel primer, folikel sekunder dan folikel tersier menggunakan mikroskop. cahaya. Penghitungan jumlah folikel dilakukan pada satu sayatan dari setiap ovarium pada setiap ulangan, kemudian hasilnya di rata rata.

Analisis Data

Data dianalisis dengan bantuan SPSS. Metode analisis uji F (anova) satu arah dan dilanjutkan uji LSD.

Hasil dan Pembahasan

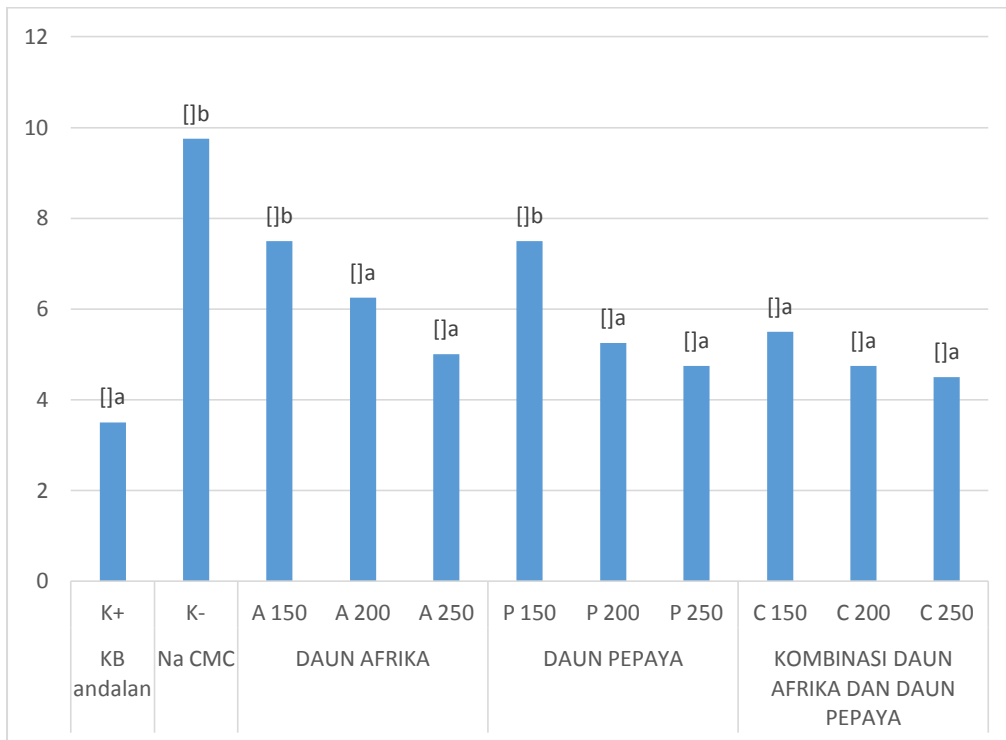
1. Hasil Rata-Rata Jumlah Folikel Primer, Perlakuan ekstrak Daun *V amygdalina*, ekstrak Daun *C papaya* dan Kombinasi kedua ekstrak disajikan pada gambar 1



Gambar 1: Hasil rata-rata jumlah folikel primer pada setiap perlakuan dan hasil LSD
 Huruf yang sama tidak berbeda nyata

Dari hasil uji One-way Anova didapatkan hasil bahwa ada perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$, $p = 0.030$) jumlah folikel primer pada mencit yang diberikan perlakuan ekstrak daun *V. amygdalina*, ekstrak daun *C papaya* beserta kombinasi kedua ekstrak serta perlakuan pemberian pil KB (Kontrol positif) dan kontrol negatif. Semakin tinggi dosis ekstrak semakin rendah jumlah folikel primer baik pada perlakuan pemberian ekstrak daun *C papaya*, *V amygdalina* maupun pada pemberian ekstrak kombinasi kedua ekstrak. Semua perlakuan tidak berbeda nyata dengan Kontrol positif, kecuali antara K positif dan kontrol negatif ada perbedaan yang signifikan, selain itu juga tidak terjadi perbedaan antara kontrol negatif dengan perlakuan pemberian ekstrak daun *V amygdalina* dosis 150 mg/Kg BB.

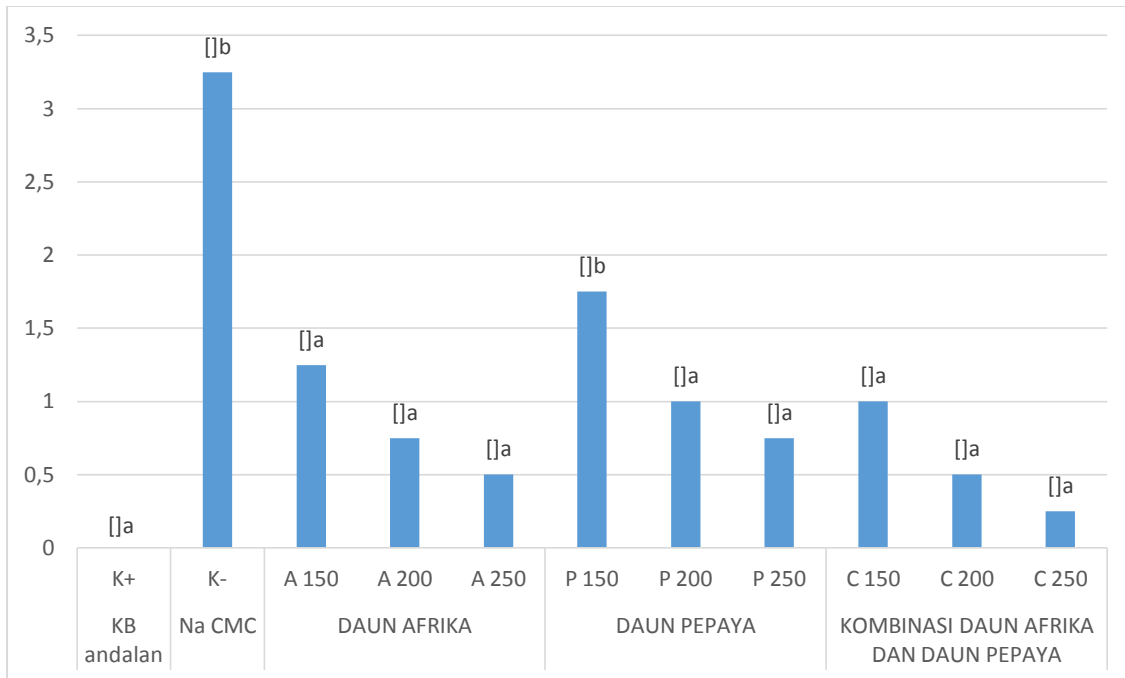
2. Hasil Rata-Rata Jumlah Folikel Sekunder Perlakuan ekstrak Daun *V amygdalina*, ekstrak Daun *C papaya* Dan Kombinasi kedua ekstrak.



Gambar 2 : Hasil rata-rata jumlah folikel sekunder pada setiap perlakuan dan hasil LSD Huruf yang sama tidak berbeda nyata

Hasil uji One-Way Anova didapatkan terjadi perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$, $p = 0,032$) jumlah folikel sekunder mencit yang diberikan perlakuan ekstrak daun *V. amygdalina*, ekstrak daun *C papaya* beserta kombinasi kedua ekstrak serta perlakuan pemberian pil KB (Kontrol positif) dan kontrol negatif. Hasil analisis data di sajikan pada gambar 2. Berdasarkan gambar 2 tersebut didapatkan hasil bahwa semakin tinggi dosis ekstrak pada semua perlakuan jumlah folikel sekunder semakin menurun. Pada semua perlakuan kecuali perlakuan Kontrol negatif, perlakuan pemberian ekstrak *V amygdalina* dosis 150 mg/KgBB, *C papaya* dosis 150 mg/KgBB jumlah folikel sekunder tidak berbeda nyata dengan perlakuan Kontrol positif. Jumlah folikel sekunder pada perlakuan pemberian ekstrak *V amygdalina* dosis 150 mg/KgBB, *C papaya* dosis 150 mg/KgBB tidak berbeda nyata, namun berbeda nyata dengan semua perlakuan.

3. Hasil Rata-Rata Jumlah Folikel Tersier Perlakuan ekstrak Daun *V amygdalina*, ekstrak Daun *C papaya* Dan Kombinasi kedua ekstrak disajikan pada gambar 3

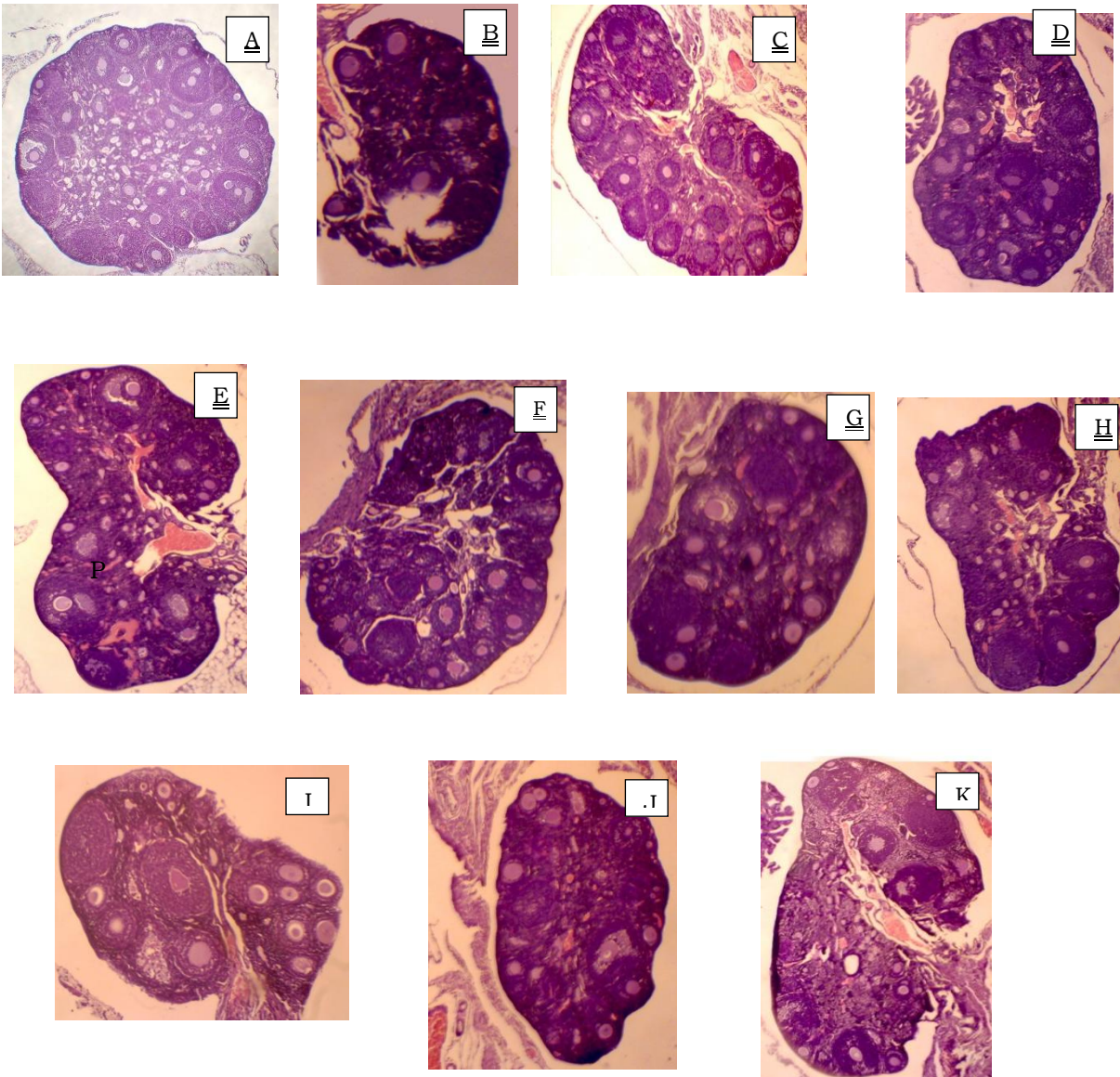


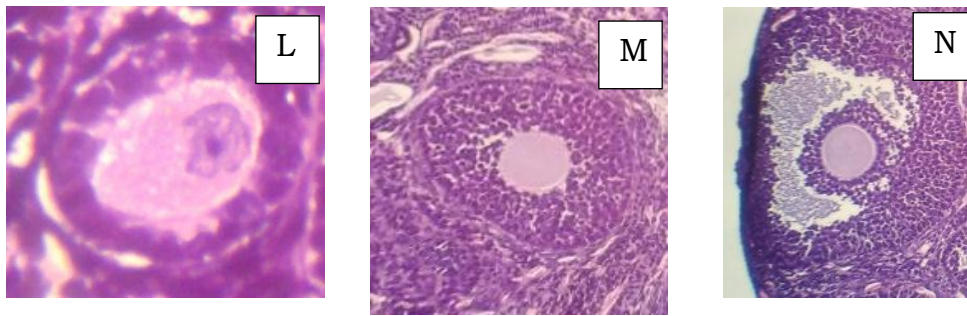
Gambar 3 : Hasil rata-rata jumlah folikel tersier pada setiap perlakuan dan hasil LSD
Huruf yang sama tidak berbeda nyata

Hasil uji One-Way Anova didapatkan terjadi perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$, $p = 0,033$) jumlah folikel tersier mencit yang diberikan perlakuan ekstrak daun *V. amygdalina*, ekstrak daun *C papaya* beserta kombinasi kedua ekstrak serta perlakuan pemberian pil KB (Kontrol positif) dan kontrol negatif.

Berdasarkan gambar 3 tersebut tampak bahwa semakin tinggi dosis ekstrak semakin menurun rata-rata jumlah folikel tersier pada mencit, pada kontrol positif tidak didapatkan folikel tersier. Pada semua perlakuan kecuali perlakuan kontrol negatif dan perlakuan pemberian ekstrak daun *C papaya* jumlah folikel tersier tidak berbeda nyata dengan kontrol positif. Jumlah folikel tersier pada Kontrol negatif tidak berbeda nyata dengan perlakuan pemberian ekstrak daun *C papaya* dosis 150 mg/KgBB, namun perlakuan kontrol negatif dan perlakuan pemberian ekstrak daun *C papaya* dosis 150 mg/KgBB jumlah folikel primer berbeda nyata dengan semua perlakuan.

Hasil visualisasi histologi ovarium disajikan pada gambar 4 berikut ini





Gambar 4: Gambar Folikel setiap perlakuan. A) K-. B) K+. C) daun Afrika 150 mg/kg BB. D) daun Pepaya 150 mg/kg BB. E) Kombinasi 75:75 mg/kg BB F) Daun Afrika 200 mg/kg BB. G) daun Pepaya 200 mg/kg BB. H) kombinasi 100:100 mg/kg BB. I) Daun Afrika 250 mg/kg BB. J) Daun Pepaya 250 mg/kg BB K) Kombinasi 125:125 mg/kg BB. L) folikel primer. M) folikel sekunder. N) folikel tersier

Pada gambar 4 tampak penampang melintang ovarium mencit pada setiap perlakuan, dimana pada gambar tersebut terdapat folikel primer merupakan folikel dengan oosit dikelilingi selapis sel epitel kuboid (sel granulosa) dan zona pelusida. Folikel sekunder merupakan perkembangan lanjut dari folikel primer. Ukurannya lebih besar dari folikel primer karena sel granulosanya lebih banyak dan mengitari oosit serta dengan adanya zona pelusida yang mengitari membran oosit. Folikel tersier ditandai dengan lebih banyaknya sel granulosa sehingga folikel tampak lebih besar dan letaknya jauh dari permukaan ovarium. perkembangan selanjutnya membentuk ruangan yang berisi cairan folikuler yang disebut antrum.

Ovarium terdiri dari banyak jenis sel yang berdiferensiasi, yang bekerja sama, didukung lingkungan yang ideal untuk melakukan fungsi endokrin dan eksokrin. Fungsi-fungsi tersebut dilakukan oleh berbagai faktor seperti autokrin, parakrin, dan endokrin yang penting untuk folikulogenesis ovarium (Mohammadpour AA, 2007). Folikulogenesis adalah hasil dari rangkaian peristiwa yang kompleks dan terintegrasi erat. Proses ini dapat didefinisikan sebagai pembentukan, pertumbuhan dan pematangan folikel, dimulai dengan pembentukan oosit yang dikelilingi oleh sel-sel granulosa yang membentuk folikel primordial. (Juengel JL, et al., 2002)

Folikel yang mewakili unit morfologis dan fungsional ovarium mamalia terdiri dari oosit yang dikelilingi oleh sel somatik (granulosa dan/atau teka) yang dibatasi oleh membran basal, Sebelum pembentukan folikel ovarium, oosit hadir dalam kelompok sel. Pembentukan folikel primordial terjadi ketika oosit yang bertahan dari proses pemecahan kluster sel germinal secara individual dikelilingi oleh sel-sel prgranulosa skuamosa. Proses ini terjadi

selama paruh kedua perkembangan janin pada manusia dan pada hari-hari segera setelah kelahiran pada tikus (Hirshfield AN , 1991). Pada mamalia, populasi folikel primordial berfungsi sebagai kumpulan oosit istirahat dan yang tersedia selama rentang kehidupan reproduksi wanita. Pemecahan kelompok sel germinal, pembentukan folikel primordial, dan rekrutmen berikutnya tetap merupakan langkah folikulogenesis (Matzuk MM , et al., 2002). Setelah sel germinal primordial berdiferensiasi, oogonia mengalami proliferasi secara mitosis dengan sitokinesis yang tidak lengkap, meninggalkan sel anak yang dihubungkan oleh jembatan antar sel. Mayoritas sel germinal dalam sebuah kluster membelah secara serempak sehingga sebuah kluster sel benih tunggal berisi $2n$. (Pepling ME and Spradling AC, 1998). Sel germinal kemudian memasuki meiosis, menjadi oosit. Sebagian besar oosit akan mengalami apoptosis saat kelompok sel germinal pecah untuk menghasilkan folikel primordial.

Folikel primordial mewakili folikel kategori pertama. Setelah pembentukannya, sel-sel granulosa berhenti berkembang biak dan memasuki periode diam. Sepanjang hidup, sekelompok kecil folikel dirangsang untuk tumbuh secara bertahap, membentuk fase folikel aktivasi. Tanda pertama aktivasi folikel primordial adalah dimulainya kembali proliferasi sel granulosa. Setelah aktivasi, serangkaian peristiwa yang meningkatkan jumlah sel granulosa, pembentukan zona pelusida dan diameter oosit meningkat mengarah ke pembentukan folikel kategori lain dari folikel preantral, yaitu folikel primer dan sekunder terjadi pematangan. Setelah diaktifkan, folikel memasuki jalur perkembangan yang telah diprogram sebelumnya dan yang diperlukan untuk keberhasilan ovulasi dan pembuahan atau sebagai alternatif hilang melalui proses atresia. (Barnett KR, et al., 2006) . Kategori kedua, folikel dicirikan oleh organisasi sel granulosa dalam beberapa lapisan dan pembentukan rongga berisi cairan folikel yang disebut antrum. Cairan folikel ini terdiri dari air, elektrolit, protein serum dan hormon steroid konsentrasi tinggi yang disekresikan oleh sel granulosa. Namun, sepanjang hidup wanita, hanya sekelompok kecil folikel, sekitar 0,1%, yang mencapai ovulasi, sehingga mengurangi potensi reproduksi wanita. Pada beberapa kondisi patologis, wanita dapat mengalami kegagalan ovarium prematur (POF) yang disebabkan oleh berbagai faktor meliputi: endokrin, parakrin, genetik, dan faktor metabolik seperti produksi ROS yang tinggi. Selain sel granulosa, sel teka direkrut ke oosit dan secara langsung atau tidak langsung diperlukan untuk perkembangan, fisiologi, dan kelangsungan hidup oosit. Dinamika folikulogenesis ovarium diklasifikasikan dalam berbagai tahap yang dikenal sebagai: (a)

pembentukan folikel primordial; (b) perekrutan untuk membentuk folikel primer, sekunder, dan tersier; (c) terakhir ovulasi dan pembentukan korpus luteum. Pada sebagian besar spesies, ovarium mamalia menunjukkan variasi yang luas terutama dalam kaitannya dengan jaringan interstisial organ, yang disebut kelenjar interstisial, dan tingkat regionalisasi gonad, yang menyiratkan adanya korteks dan medula. Bagian dalam terdiri dari jaringan ikat fibroelastik, jaringan saraf dan pembuluh darah (medula) sedangkan bagian luar yang disebut korteks terletak di lapisan luar dan dikelilingi oleh epitel germinal, yang berisi folikel ovarium dan corpora lutea dalam berbagai tahap. perkembangan atau dalam regresi.

Kegiatan fisiologi ovarium sangat bergantung pada aktifitas kelenjar hipofisa anterior. Aktifitas ovarium dipengaruhi oleh hormon yang berasal dari kelenjar hipofisa (Saat siklus awal, kadar estradiol dan progesteron rendah sehingga hal ini merangsang hipofisa untuk memproduksi sekresi Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH). GnRH merangsang hipofise anterior untuk mensekresikan FSH (Folicle Stimulating Hormons) dan LH (Lutheizing Hormons) yang diperlukan untuk merangsang pertumbuhan folikel pada ovarium yang pada akhirnya menghasilkan esterogen. Esterogen akan menimbulkan umpan balik negatif ke hipofisa yang akan menghambat FSH sehingga folikel mengalami atresia kecuali folikel yang telah menghasilkan folikel dominan dan folikel ini akan berkembang sampai pada tahap ovulasi. Gangguan pelepasan FSH dan LH dapat menyebabkan kegagalan pematangan folikel, sehingga jumlah folikel yang tumbuh lebih sedikit dan banyak folikel yang atresi. Folikel atresi dapat terjadi pada setiap tahapan perkembangan folikel. Folikel yang atresi ditandai dengan terhentinya mitosis pada sel granulosa, terlepasnya sel granulosa dari lamina basal dan oosit yang mati (Jungueira,1999).

Tanaman dengan sifat estrogenik dapat secara langsung mempengaruhi kerja hipofisis melalui modulasi perifer LH dan FSH, menurunkan sekresi hormon-hormon ini dan menghalangi ovulasi (Brinker F. 1997).

Hasil penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun *V amygdalina* dan daun *C papaya* serta kombinasinya dapat menurunkan jumlah folikel primer, sekunder dan folikel tersier. Semakin tinggi dosis yang diberikan, semakin sedikit jumlah folikel yang di dapat. Hal ini dipengaruhi banyaknya/dosis zat aktif yang berperan pada proses tersebut. Pada ekstrak kombinasi, semakin tinggi dosis semakin rendah jumlah folikel yang diperoleh baik pada folikel primer, sekunder maupun tersier. Hal ini di duga karena adanya gabungan bahan aktif

pada kedua ekstrak yang saling melengkapi sehingga ekstrak tersebut memiliki kandungan yang kompleks dan mampu menghambat pertumbuhan folikel.

Hasil penelitian sejalan dengan hasil penelitian Ganguly et al., (2007) tentang aktivitas antifertilitas *Cissampelos pareira* pada mencit didapatkan banyak folikel yang atretik, terjadi penghambatan perkembangan sel granulosa. Hal ini karena triterpenoid, tanin, alkaloid, dan flavonoid yang terkandung dalam daun *Cissampelos pareira* diduga dapat menyebabkan penurunan produksi estrogen atau bersaing dengan reseptor, penurunan kesuburan, penurunan aktivitas enzim fosfatase, dan peningkatan konsentrasi kolesterol dalam darah yang menunjukkan penghambatan steroidogenesis dan dapat menyebabkan folikel atretik. Penghambatan perkembangan sel granulosa oleh senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan triterpenoid menyebabkan reseptor FSH pada membran sel granulosa menjadi tidak aktif, sehingga menghambat perkembangan sel granulosa.

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan pendapat Sharma R.K., et al., (2013) yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak *Urena lobata L* menyebabkan folikel atretik dan menghambat perkembangan sel granulosa. Hal ini karena triterpenoid, tanin, alkaloid, dan flavonoid yang terkandung dalam daun *Urena lobata L*. diduga dapat menyebabkan penurunan produksi estrogen atau bersaing dengan reseptor, penurunan kesuburan, penurunan aktivitas enzim fosfatase, dan peningkatan konsentrasi kolesterol dalam darah yang menunjukkan penghambatan steroidogenesis dan dapat menyebabkan folikel atretik. Penghambatan perkembangan sel granulosa oleh senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan triterpenoid pada daun *Urena lobata L*. menyebabkan reseptor FSH pada membran sel granulosa menjadi tidak aktif, sehingga menghambat perkembangan sel granulosa.. Sedangkan menurut Kurzer MS, Xu X.(1997), senyawa flavonoid dan lignin yang berasal dari tumbuhan memiliki kemampuan untuk meniru efek biologis hormon endogen dengan mengikat inti reseptor mereka atau mengatur aktivitas enzim metabolisme mereka seperti sitokrom P450 aromatase, dan 17-hidroksisteroid dehidrogenase yang merupakan enzim untuk steroidogenesis. Efek estrogenik dari beberapa senyawa sering dikaitkan dengan stimulasi kompleks hipotalamus-hipofisis yang meningkatkan hormon perangsang folikel (Folikel Stimulating Hormon/FSH) yang selanjutnya akan menginduksi steroidogenesis ovarium.

Daun *V amygdalina* mengandung alkaloid, tanin , flavonoid, dan saponin (Alara O.R., 2017). Menurut Pelissero C, et al., (1996), flavanoid dengan potensi estrogenik telah dilaporkan dapat menghambat aktivitas aromatase di berbagai jaringan. Studi dengan quercetin, suatu flavonoid yang ada di beberapa tanaman, serta senyawa non steroid yang dikenal sebagai fitoestrogen mempengaruhi fungsi sel granulosa babi dengan mengganggu aktivitas steroidogenik dan status redoks (Moutsatsou P, 2007) serta dengan menghambat keluaran faktor pertumbuhan endotel vaskular (Dusza L , et al., 2006). Fitoestrogen ini merupakan modulator fungsi ovarium melalui penghambatan enzim steroidogenik (Lephart ED, 2015). Tindakan penekanan fitoestrogen pada sitokrom P450 (enzim yang mengkatalisis konversi kolesterol menjadi pregnenolon) merupakan langkah pembatas laju dalam jalur steroidogenik. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa fitoestrogen menginduksi penurunan produksi P4 pada sel granulosa (Whitehead SA and Lacey M, 2003). Penurunan ini disebabkan oleh penghambatan enzim 3-hidroksisteroid. Selanjutnya, Santini et al., 2007, mengungkapkan efek penghambatan quercetin pada aktivitas aromatase. Telah dikemukakan bahwa aksi fitoestrogen pada aktivitas aromatase dapat dimediasi oleh nitric oxide (NO). Radikal bebas ini tampaknya mewakili regulator autokrin dari produksi E2 sel granulosa . Bahkan, radikal bebas ini tampaknya mewakili mekanisme kerja fitoestrogen pada enzim steroidogenik. Flavonoid, menghambat enzim aromatase yang mempunyai fungsi untuk mengkatalis androgen menjadi estrogen. Estrogen yang kadarnya tinggi akan menyebabkan umpan balik negatif ke hipofisis sehingga pelepasan FSH dan LH menjadi terhambat, proses mitosis dan folikulogenesis terhambat, Proses ovulasipun juga terhambat (Suhaemi, 2007).

Saponin juga berperan dalam antifertilitas. Turner dan Bagnara (2012) menyatakan bahwa saponin merupakan senyawa aktif pada tumbuhan yang bersifat antiestrogen. Efek antiestrogen bekerja secara kompetitif pada lokasi reseptor jaringan sasaran untuk menghalangi aktivitas aksi esterogen dan karena ovarium tidak menerima pasokan hormon akibatnya menyebabkan ovarium inaktif, pertumbuhan folikel, dan sekresi estrogen terganggu karena itu ovulasi juga dapat terganggu. Demikian juga yang dinyakan oleh Bayne, S, et al (2011) bahwa Saponin dan steroid berkontribusi pada penghambatan steroidogenesis dengan menekan perkembangan sel granulosa pada folikel antral. Enzim aromatase merupakan salah satu enzim yang berperan dalam steroidogenesis. Enzim aromatase yang dihasilkan oleh sel granulosa berfungsi untuk mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen. Perkembangan sel granulosa terhambat, menyebabkan aktivitas

aromatase menurun sehingga estrogen menurun. Defisiensi estrogen menyebabkan penghambatan yang signifikan terhadap pemeliharaan telomer telomerase di ovarium sehingga proliferasi sel granulosa terhambat.

Alkaloid ikut berperan dalam antifertilitas, yakni menurut Nurliani (2004) alkaloid dapat masuk jalur biosintesa steroid terutama esterogen sehingga bahan yang mirip dengan esterogen dihasilkan selanjutnya akan ikut di sekresi bersama esterogen sel ke sel target. Karena zat yang seharusnya berikatan dengan ABP (Androgen Binding Protein) adalah hormon esterogen yang sebenarnya bukan zat yang mirip esterogen maka tidak terjadi reaksi pada ovarium. Hal ini dapat menyebabkan hormon esterogen sebenarnya tidak di sekresi dan terganggunya proses oogenesis. Menurut Kadohama et al (1993) melaporkan bahwa beberapa alkaloid tanaman menghambat aktivitas aromatase, sehingga mengubah potensi produksi steroid dan kinerja reproduksi. Menurut Yakubu et al., (2008), Alkaloid juga diduga dapat menghambat aktivitas aromatase, mengubah potensi produksi steroid dan kinerja reproduksi, sehingga alkaloid diduga bertanggung jawab untuk menurunkan kadar estradiol dengan menghambat aktivitas aromatase. Penurunan estradiol menyebabkan proliferasi sel granulosa selama proses perkembangan folikel terganggu

Menurut Setyowati dkk (2015) Tanin juga dapat menyebabkan terjadinya antifertilitas. Tanin bersifat sitotoksik yang dapat mempengaruhi pembelahan sel dalam proses oogenesis atau dapat terjadi pada uterus sehingga proses perkembangan awal embrio terganggu. Menurut Meistrich, efek sitotoksik bekerja pada sel yang mengalami pembelahan cepat. Menurut Wahyuni (2002), pada oogenesis terjadi pembelahan sel secara cepat . Tanin bersifat sitotoksik terhadap sel tumor, diduga sitotoksik juga terhadap sel ovarium. Dalam ovarium terdapat sel teka dan sel granulosa dan sel tersebut dapat dirusak oleh efek tersebut. Rusaknya sel tersebut menyebabkan gangguan terhadap folikulogenesis (Gannon,2013).

Dalam daun *C papaya* pun sama kandungannya dengan *V amygdalina* hanya saja terdapat tambahan yakni terpenoid. Terpenoid juga dapat menyebabkan antifertilitas dengan cara mengganggu jalur hypothalmus-hipofise. Terpenoid adalah bahan turunan steroid. Steroid sendiri berperan sebagai bahan baku pembentukan hormon seks dan mensintesis estrogen (Elyal, 2002). Menurut Robhinson (1995) peningkatan kadar steroid akan diikuti peningkatan kadar hormon estrogen. Kandungan estrogen yang normal dalam darah berfungsi memelihara dan mempertahankan folikel sedangkan dalam jumlah tinggi akan menghambat

perkembangan folikel. Hal ini dipertegas pernyataan Sherwood (2005) bahwa meningkatnya kadar estrogen akan menyebabkan umpan balik negatif terhadap pituitari anterior untuk menghambat sekresi GnRH. Penurunan GnRH menyebabkan penurunan sekresi LH. LH berfungsi untuk proses ovulasi, akan tetapi jika LH sedikit akan menghambat atau kegagalan proses ovulasi. Selain penurunan LH, FSH akan turun yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan folikel.

Peristiwa folikulogenesis tidak hanya dipengaruhi oleh hormon gonadotropin saja melainkan juga dipengaruhi oleh peptida yang dihasilkan oleh ovarium itu sendiri. Apabila proses intrafolikuler ini terganggu maka ovulasi tidak terjadi (Samsulhadi, 2000).

Pada penelitian ini Perlakuan yang tidak berbeda nyata dengan control positif (KB Andalan) maka ekstrak tersebut berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan pengontrolan fertilitas pada wanita. Pada penelitian ini perlakuan pemberian ekstrak kombinasi daun *V amygdalina* dan daun *C papaya* dosis 125:125 mg/kg BB didapatkan rata rata jumlah folikel yang sangat rendah baik pada folikel primer, folikel sekunder dan folikel tersier. Dengan demikian yang paling berpotensi sebagai bahan kontrasepsi alami adalah perlakuan ekstrak kombinasi daun *V amygdalina* dan daun *C papaya* dosis 125:125 mg/kg BB.

Simpulan

Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*), Daun pepaya (*Carica papaya*) dan kombinasi kedua ekstrak berpengaruh terhadap jumlah folikel primer, sekunder dan tersier mencit (*Mus musculus*). Ekstrak kombinasi daun *V amygdalina* dan daun *C papaya* dosis 125:125 mg/kg BB paling berpotensi sebagai bahan kontrsepsi alami.

Referensi

- Adejoke Elizabeth Memudu and Tayo Jane Oluwole, 2020, The Contraceptive Potential of Carica papaya seed on oestrus cycle, Progesterone and Histomorphology of The Utero-Ovarian Tissue of Adult Wistar Rats, JBRA Assisted Reproduction (0):000-000, DOI: 10.5935/1518-0557.20200023.
- Alara OR., Abdurahman NH., Mudalip SKA., Olalere, 2017, Phytochemical and phamacological Properties of Vernonia amygdalina: A Review, J,of Chemical Engineering and Industrial Biotechnology, V2 :80-96
- Audu, S. A., Alemika, E. T., Abdurraheem,R.O.,Abdulkareem, S. S., Abdurraheem, R. B. and Ilyas, M. 2012. A Study Review of Documented Phytochemistry of Vernonia amygdalina (Family Asteraceae) as the Basis for Pharmacologic Activity of Plant Extract. Journal of Natural Sciences
- Ayele, Chirota. 2006. In Vivo And In Vitro Antifertility Properties Of *Vernonia Amygdalina Del.* Addis Ababa University School Of Graduate Studies Departement Of Biology (Stream Zoology): Ethiopia

- Barnett KR, Schilling C, Greenfeld CR, Tomic D, Flaws JA. 2006. Ovarian follicle development and transgenic mouse models. *Hum Reprod.*;12:537–55.
- Bayne S., He Li, Jones, M.E.E., Pinto A.R., Sinderen M.V., Drummobd A., Simpson E R., Jun-Ping Liu, 2011, Estrogen deficiency Reversibility Induces Telomer Shortening in Mouse Granulosa Cells and Ovarian Aging in Vivo, *Protein an Cell* 2(4) 233-236
- Brinker F. 1997. Inhibition of endocrine function by botanical agents, Antigonadotropic activity. *Br J Phytother* 1997; 4:123–145
- .Charles Ansah. 2015. *Aqueous Leaf Extract Of Carica Papaya (Caricaceae) Linn. Causes Liver Injury And Reduced Fertility In Rats*. Department of Pharmacology, College of Health Sciences, Kwame Nkrumah University of Science and Technology (KNUST), Kumasi, Ghana.
- Cherian T. Effect of papaya latex extract on gravid and non- gravid rat uterine preparation in vitro. *J Ethnopharmacol.* 2000;70:205- 12. PMID: 10837984 DOI: 10.1016/S0378-8741(99)00173-7
- Dabhadkhar DK., VG. Thakare., VS. Zade., AP. Charjan., MM. Dhore, dan SM. Deosthale. 2015. Review on Some Ethnobotanical Plants Having Antifertility Activity In Female Albino Rats. *Int. Res. J. of Science and Engineering*,3 (2): 43–46.
- Dalimartha, Setiawan. 2000. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2. Jakarta: Trubus Agriwidya
- Dusza L., Cierezko R., Skarzynski DJ, Nogowski L, Opalka M, Barbara K, 2006; Mechanism of phytoestrogen action in reproductive processes of mammals and birds. *Reprod Biol.* 6:151–74.
- Elyal, Berna dan Dadang Kusmana. 2002. Pengaruh Infus Daun Puding (*Polyscias guilfoylei* L.H. Bailey) Terhadap Kualitas Spermatozoa Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Galur DDY. *Jurnal makara, sains.* 6 (2): 99-104.
- Ganguly M., Borthakur MKr, Devi N., Mahanta R., 2007, Antifertility activity of The Methanolic Leaf Extract of *Cissampelos pareira* in Female albino Mice, *J. Ethnopharmacology* (3) 111:688-691
- Gannon, A. M. 2013. Exposure to cigarette smoke and its impact on the ovarian follicle population: mechanisms of follicle loss. Thesis. Mc Master University, Canada.
- Garima Mishra, Neeraj Kumar, Reenoo Jauhari, Preeti Kothiyal, 2020, A Warenees of contraception in Rural Area, *International Journal of Research and Analitical Review* February, Volume 7, Issue 1
- Hirshfield AN. 1991. Development of follicles in the mammalian ovary international. *Int Rev Cytol.* ;124:43–101.
- Juengel JL, SawyerHR, Smith PR, Quirke LD, Heath DA, Lun S, et al. Origins of follicular cells and ontogeny of steroidogenesis in ovine fetal ovaries. *Mol Cell Endocrinol.* 2002;191:1–10.
- Julaily, N., Mukarlina & Setyawati, T. R. 2013. Pengendalian Hama pada Tanaman Sawi (*Brassica juncea* L.) Menggunakan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Protobiont*, 2 (3): 171-175
- Junqueira L.C., Carneiro J., and Kelley R.O. 1999. *Histologi Dasar*. Edisi ke-8. Diterjemahkan oleh Dr. Jan Tambayong . Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Kadohama N, Shintani K, Osawa Y. Tobacco alkaloid derivatives as inhibitors of breast cancer aromatase. *Cancer Lett* 1993; 75: 175-182.

- Kurzer MS, Xu X. 1997. Dietary phytoestrogens. *Annu Rev Nutr.*;17:353–81.
- Lephart ED. 2015. Modulation of aromatase by phytoestrogen. *Enzym Res.* :11.
- Matzuk MM, Burns KH, Viveiros MM, Eppig JJ. 2002 Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation. *Science.* ;296:2178–80.
- Millind , P .Gur dita.. 2011. Basketful Benefits of Papaya. Department of Pharmacology, College of Health Sciences, Kwame Nkrumah University of Science and Technology (KNUST), Kumasi, Ghana
- Mohammadpour AA. 2007. Comparative histomorphological study of ovary and ovarian follicles in Iranian Lori-Bakhtiari sheep and native goat. *Pak J Biol Sci.*;10:673–5.
- Moutsatsou P. 2007. The spectrum of phytoestrogens in nature: our knowleged expanding Hormones. ;6:173–93. 8
- Nurliani, A. 2004. Gambaran Struktur Mikroanatomi Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus L.*) Setelah Pemberian Ekstrak Kulit Batang Durian (*Durio zibethinus Murr.*). Unpublished Bachelor thesis, FMIPA UNLAM. Banjarbaru
- Nweke Elizabeth O. 1 , Opara Julia K. and Nweke Tochukwu M. , 2019, Histological Effect of Graded Doses of *Vernonia amigdalina* on The Ovary of Female Wistar Rats *Word Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 5(9), 30-34
- Pelissero C, Lenczowski MJP, Chinzi D, Davail CB, Sumpter JP, Fostier A. 1996. Effects of flavonoids on aromatase activity, anin vitro study. *J Steroid Biochem Mol Biol.* ;57:215–23.
- Pepling ME, Spradling AC. 1998. Female mouse germ cells form synchronously dividing cysts. *Development* ;125:3323–8.
- Robinson, Trevor. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi: Bandung. ITB.
- Samsulhadi, 2000. *Anovulasi dan infertilitas, Laboratorium SMF Obsetri dan Ginekologi*, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, RSUD Dr. Soetomo, Surabaya
- Santini SE, Basini G, Bussolati S, Grasselli F. 2007. The phytoestrogen quercetin impairs steroidogenesis and angiogenesis in swine granulosa cells in vitro. *J Biomed Biotechnol.* ;6:173–93.
- Santoso, B. 1993. Pedom an Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka; Penapisan Farmakologi Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik. Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phyto Medika, Jakarta
- Setyowati, E.A.W., D.R.S. Ariani, Ashadi, B. Mulyani, A. Hidayat. 2015. Aktivitas Antifertilitas Kontrasepsi Dari Kulit Durian (*Durio zibethinus Murr.*) Varietas Petruk. Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan Fmipa Fkip Uns, Surakarta, 57-126.
- Sharma R.K., Goyal P K., and Bhat R.A., 2013, 2013, Antifertilty Activity of Plants Extract on Female Reproduction: A review, *International journal of Pharmacy and Biological Science*, 3: 493-514
- Sherwood, Lauralee., Klandorf, Hillar dan Yancey, paul H. 2005. *Animal Physiology from Genes to Organisms*. United States: Thomson Brooks/Cole
- Sindhu G, Ragini G, Sreehari L, Gayathri G, Thejaswee A, Inthiyaz S, Usha Kiran Reddy T, Thyagaraju K. 2019. Pharmacognostical and pharmacological profile of carica papaya - A review. *World J Pharm Pharm Sci.*;8:675- 94.



- Suhaeimi, K. 2007. Fisiologi Folikulogenesis dan Ovulasi. Makalah pada Symposium Pertemuan Ilmiah. Jakarta
- Wahyuni, A. 2002. Pengaruh Solasodin terhadap Diameter Tubulus Seminiferus dan Gambaran Sel-sel Spermatogenik Mencit (*Mus musculus*) Dewasa. *Jurnal Kedokteran YARSI*. 10 (2): 56-65.
- Whitehead SA, Lacey M. 2003. Phytoestrogens inhibit aromatase but not 17 -hydroxysteroid dehydrogenase (HSD) type 1 in human granulosa-luteal cells: evidence for FSH induction of 17-HSD. *Hum Reprod.* ;18:487–94.
- Yakubu, M.T., Akanji MA., Oladiji T., Owoyele B., Olatinwo AWO., Adesokan AA., Yakubu MO., Sunmonu TO., Ajao, M.S., 2008, Effect of *Cnidioscolous aconitifolius* (Miller) I.M. Johnson Leaf Extract on Reproductive Hormones of Female Rats, *International Journal of Reproductive BioMedicine*, June-2008.