

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kadar Superoksida Dismutase (SOD)

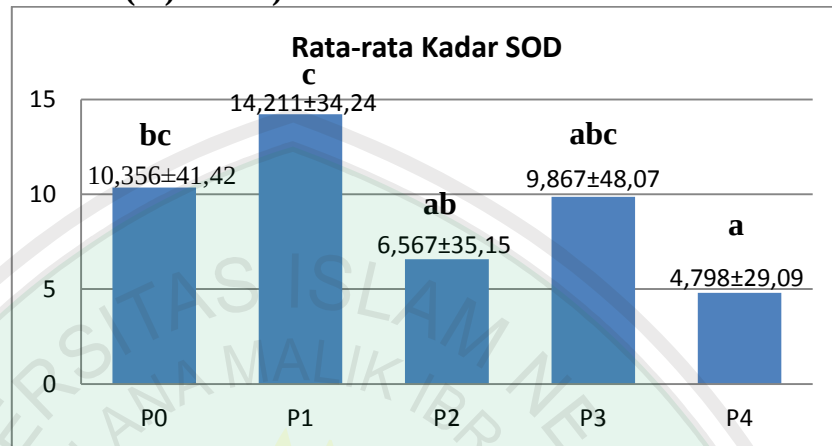
Hasil pengujian dengan menggunakan ANOVA *One Way* menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($\alpha = 0,05$), hal ini menandakan bahwa terdapat pengaruh nyata pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kadar Superoksida Dismutase (SOD) pada ovarium mencit (*Mus musculus*). Hal ini sebagaimana tersaji pada tabel 1.1.

Tabel 1.1 Hasil Uji Anova Kadar Superoksida Dismutase (SOD) pada ovarium mencit (*Mus musculus*) setelah diberi perlakuan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) selama 30 hari

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel 0,05
Perlakuan	4	261,572	65,393	4,564	2,87
Galat	20	286,559	14,328		
Total	24	548,131			

Untuk mengetahui perbedaan pada setiap perlakuan maka dilakukan uji lanjut BNT 5 %. Berdasarkan hasil uji lanjut BNT 5 % didapatkan notasi sebagai berikut (gambar 4).

Gambar 4. Grafik Kadar Superoksida dismutase (SOD) pada ovarium mencit (*Mus musculus*) setelah diberi perlakuan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) selama 30 hari



Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda secara signifikan menurut ($\alpha = 0,05$)

Notasi diatas (Gambar 4.) menjelaskan bahwa perlakuan-1 (dosis 125 mg/kg bb) menunjukkan kadar SOD tertinggi hasil ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan-0 (tanpa perlakuan) dan perlakuan-3 (dosis 275 mg/kg bb) sedangkan perlakuan-2 (dosis 200 mg/kg bb) tidak berbeda nyata dengan perlakuan-4 (dosis 350 mg/kg bb).

4.1.2 Pengaruh ekstrak daun pegagan (*centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kadar Gluthation Superoksida Hidroksil (GSH)

Berdasarkan hasil pengujian dengan menggunakan ANOVA *One Way* didapatkan hasil yakni $F_{hitung} < F_{tabel}$ ($\alpha = 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh nyata pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kadar Gluthation

Superoksida Hidroksil (GSH) pada ovarium mencit (*Mus musculus*).

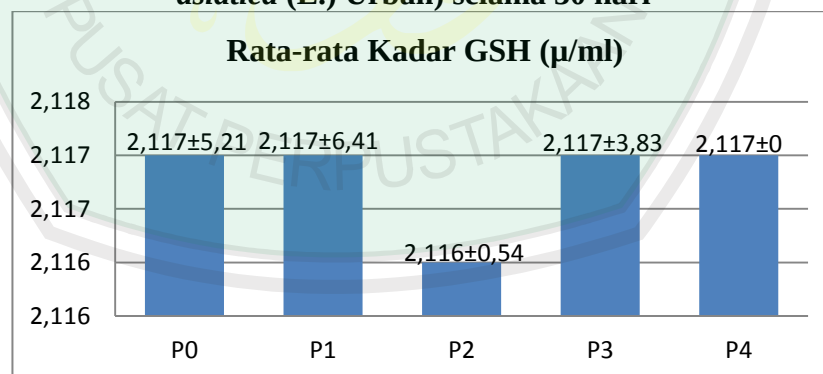
Hal ini sebagaimana yang tersaji pada tabel 1.2.

Tabel 1.2 Hasil Uji Anova Kadar Gluthation Superoksida Hidroksil (GSH) pada ovarium mencit (*Mus musculus*) setelah diberi perlakuan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) selama 30 hari

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel 0,05
Perlakuan	4	0,000	0,000	0,212	2,87
Galat	20	0,000	0,000		
Total	24	0,000			

Hasil pengujian kadar GSH juga digambarkan dalam grafik (Gambar 5). Grafik pengukuran GSH menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara perlakuan satu dengan perlakuan lain.

Gambar 5. Grafik Kadar Glutathion Superoksida Hidroksil (GSH) pada ovarium mencit (*Mus musculus*) setelah diberi perlakuan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) selama 30 hari



4.1.3 Pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap ketebalan sel granulosa

4.1.3.1 Pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap ketebalan sel folikel primer

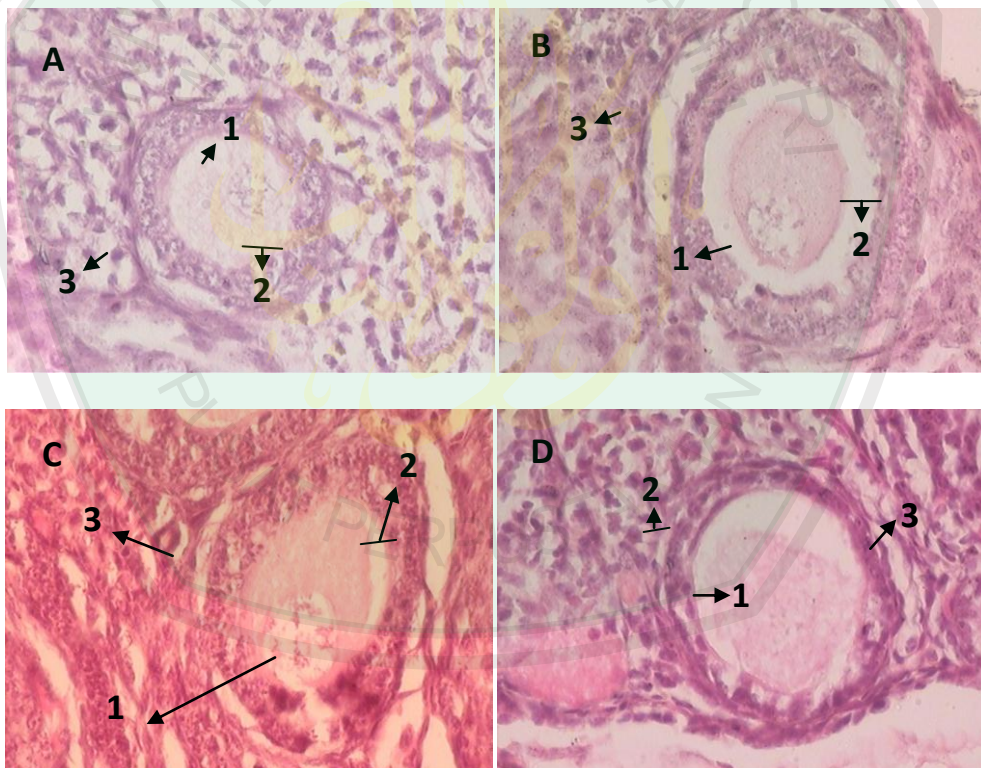
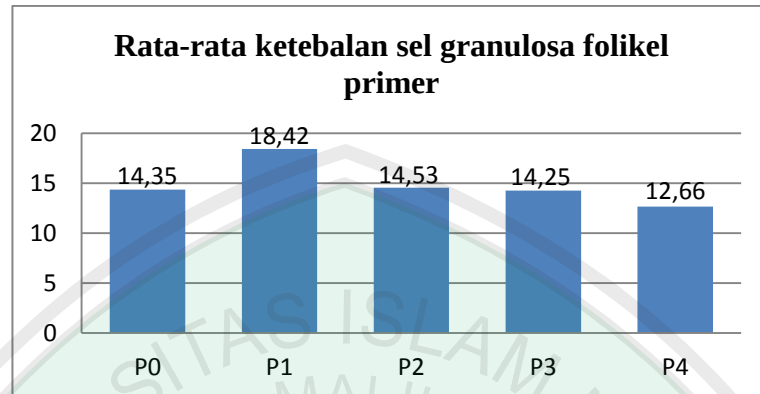
Data rata-rata tebal sel granulosa pada folikel primer yakni perlakuan-0 (14,35 μ), perlakuan-1 (18,42 μ), perlakuan-2 (14,53 μ), perlakuan-3 (14,25 μ), perlakuan-4 (12,66 μ). Hasil uji ANOVA *One Way* menunjukkan $F_{hitung} < F_{tabel}$ ($\alpha = 0,05$), hasil ini menandakan bahwa tidak ada pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak daun pegagan terhadap ketebalan sel granulosa folikel primer pada ovarium mencit. Hal ini sebagaimana yang tersaji pada tabel 1.3.

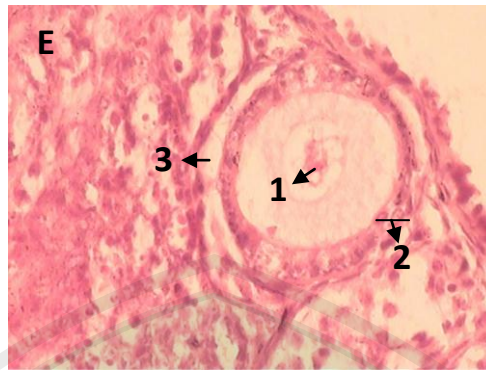
Tabel 1.3 Hasil Uji Anova Ketebalan Sel Folikel Primer pada ovarium mencit (*Mus musculus*) setelah diberi perlakuan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) selama 30 hari

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel 0,05
Perlakuan	4	13,788	3,447	0,658	2,87
Galat	20	104,729	5,236		
Total	24	118,518			

Rata-rata pengukuran ketebalan sel granulosa folikel primer juga ditunjukkan pada grafik (gambar 6). Grafik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang nyata antara perlakuan satu dengan perlakuan lain. Gambaran histologi sel granulosa (gambar 7.) juga menunjukkan hasil yang sama.

Gambar 6. Ketebalan sel folikel primer setelah diberi perlakuan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) selama 30 hari





Gambar 7. Histologi Ketebalan Folikel Primer setelah pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) (perbesaran 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.

4.1.3.2 Pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap ketebalan sel folikel sekunder

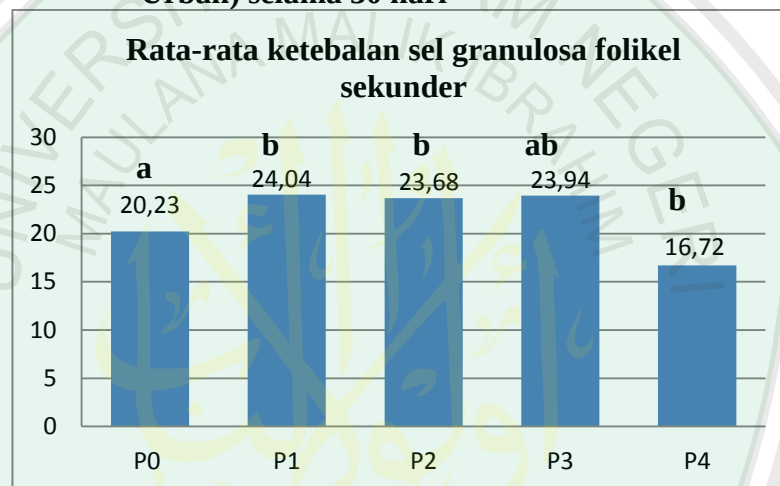
Data rata-rata tebal sel granulosa pada folikel sekunder yakni perlakuan-0 (20,23 μ), perlakuan-1 (24,04 μ), perlakuan-2 (23,68 μ), perlakuan-3 (23,94 μ), perlakuan-4 (16,72 μ). Hasil uji ANOVA *One Way* menunjukkan $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($\alpha = 0,05$), hasil ini menandakan bahwa ada pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak daun pegagan terhadap ketebalan folikel sekunder sel granulosa. Hal ini sebagaimana yang tersaji pada tabel 1.4.

Tabel 1.4 Hasil Uji Anova Ketebalan sel folikel sekunder pada ovarium mencit (*Mus musculus*) setelah diberi perlakuan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) selama 30 hari

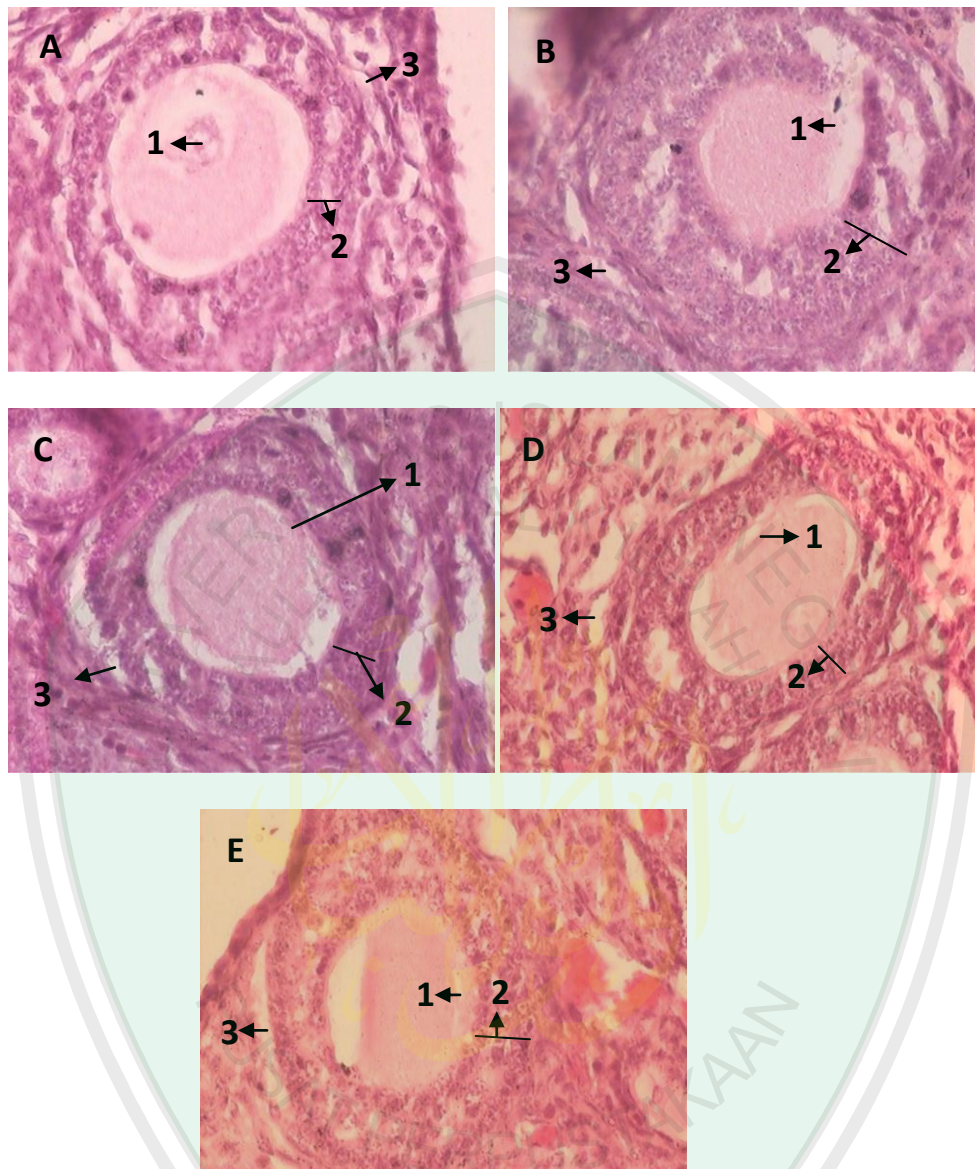
SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel 0,05
Perlakuan	4	207,156	51,789	2,821	2,87
Galat	20	367,223	18,361		
Total	24	574,379			

Untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap ketebalan sel granulosa antara perlakuan satu dengan perlakuan lain maka dilakukan uji lanjut BNT 5 %. Hal ini sebagaimana tersaji pada gambar 8.

Gambar 8. Grafik ketebalan sel folikel sekunder setelah diberi perlakuan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) selama 30 hari



Hasil uji BNT 5 % diatas menjelaskan bahwa perlakuan-1 (dosis 125 mg/kg bb) menunjukkan ketebalan sel granulosa folikel sekunder tertinggi, 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). Hasil ketebalan sel granulosa dibuktikan pula dengan gambaran histologi sel granulosa (gambar 9).



Gambar 9. Histologi Ketebalan Folikel Sekunder setelah pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) (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.

4.1.3.3 Pengaruh ekstrak daun pegagan (*centella asiatica* (L.) Urban) terhadap ketebalan sel folikel tersier

Berdasarkan hasil pengujian dengan menggunakan ANOVA *One Way* diperoleh data yakni $F_{hitung} < F_{tabel}$ ($\alpha =$

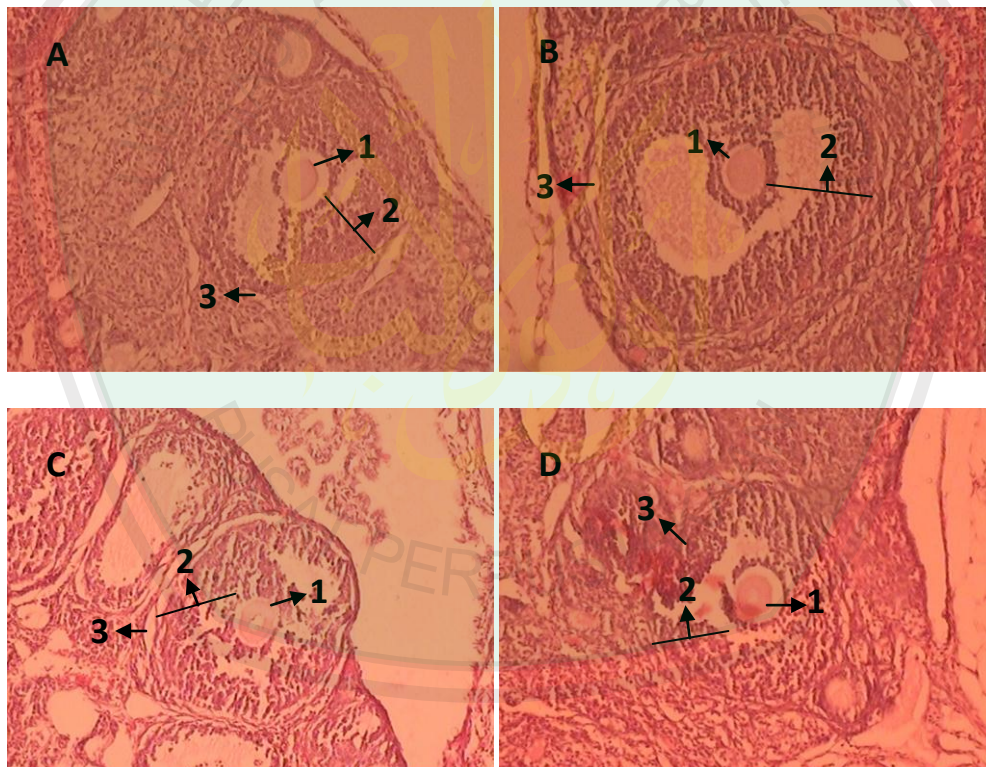
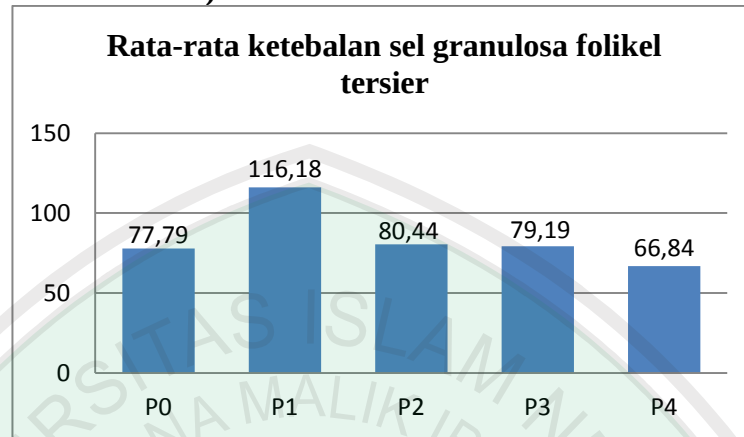
0,05), hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh nyata dari pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap ketebalan sel granulosa folikel tersier pada ovarium mencit (*Mus musculus*). Hal ini sebagaimana yang tersaji pada tabel 1.5.

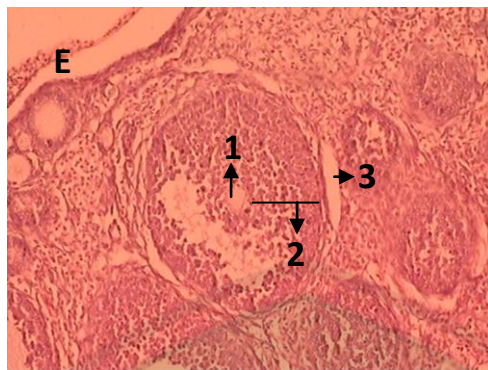
Tabel 1.5 Hasil Uji Anova Ketebalan sel folikel tersier pada ovarium mencit (*Mus musculus*) setelah diberi perlakuan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) selama 30 hari

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel 0,05
Perlakuan	4	7021,932	1755,483	1,267	2,87
Galat	20	27721,702	1386,085		
Total	24	34743,634			

Hasil pengukuran ketebalan sel granulosa folikel tersier juga digambarkan dalam grafik (Gambar 10.) dan gambaran histologi (Gambar 11.). Tidak adanya perbedaan yang signifikan yang didapatkan berdasarkan pengujian Anova *One Way* diatas juga dibuktikan dengan gambaran histologi sel granulosa.

Gambar 10. Ketebalan sel granulosa folikel tersier setelah diberi perlakuan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) selama 30 hari





Gambar 11. Histologi Ketebalan Folikel Tersier setelah pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) (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.

4.2 Pembahasan

Penelitian tentang pengaruh ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap kadar Superoksida Dismutase (SOD) dan Gluthation Superoksida Hidroksil (GSH) menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*). Perlakuan dilakukan dengan pemberian ekstrak secara oral dengan lima dosis berbeda yakni dosis 0 (tanpa perlakuan), 125 mg/kg bb, 200 mg/kg bb, 275 mg/kg bb, dan 350 mg/kg bb. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) sebagai bahan antifertilitas terhadap kadar SOD dan GSH yang terdapat dalam ovarium mencit (*Mus musculus*).

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dengan Anova One Way tentang pengaruh ekstrak daun pegagan terhadap kadar SOD pada ovarium mencit (*Mus musculus*), diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa F hitung > F tabel 0,05 yang berarti H_0 ditolak dan H_1 diterima, dimana hal ini

menunjukkan bahwa ada pengaruh dari pemberian ekstrak daun pegagan terhadap kadar SOD dalam ovarium.

Berdasarkan 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 diatas menunjukkan bahwa makin tinggi dosis ekstrak daun pegagan dalam ovarium mencit maka semakin rendah kadar SOD. Penurunan kadar SOD dalam ovarium mencit ini diduga karena adanya bahan-bahan aktif yang terkandung dalam pegagan. Senyawa aktif ini sering disebut senyawa fitokimia. Senyawa fitokimia dalam pegagan diataranya 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.

Hal ini sebagaimana yang telah kita ketahui bahwa senyawa fitokimia memiliki beberapa mekanisme kerja. Menurut Gruber (2002) senyawa fitokimia pada dasarnya bekerja dengan dua mekanisme yaitu melalui efek

sitotoksik dan melalui efek gangguan terhadap keseimbangan sistem hormonal.

Kandungan senyawa aktif yang terdapat pada pegagan sangat beragam diantaranya triterpenoid saponin, triterpenoid genin, minyak essensial, flavonoid, fitosterol, gula dan bahan aktif lain seperti tanin, asam amino, asam lemak alkaloid dan garam-garam mineral serta asam asiatic.

Beberapa bahan aktif dalam pegagan diduga dapat menyebabkan efek sitotoksik diantaranya senyawa alkaloid. Alkaloid yang terkandung dalam ekstrak daun pegagan berefek sitotoksik. Efek sitotoksik tersebut akan menyebabkan gangguan metabolisme sel folikel. Gangguan metabolisme sel biasanya didahului oleh berkurangnya oksigen karena pengaruh masuknya senyawa toksik dalam ekstrak daun pegagan ke dalam tubuh. Hal ini sesuai dengan pendapat 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) isoflavon dari golongan flavonoid, saponin dan alkaloid juga dapat merangsang pembentukan estrogen pada mamalia, hal ini dikarenakan strukturnya yang memiliki kemiripan dengan hormon estrogen.

Selain itu, flavonoid juga merupakan salah satu senyawa aktif pada pegagan yang bersifat estrogenik 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. Namun pada 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.

Hal ini sesuai dengan pernyataan Kaspul (2007), bahan aktif alkaloid steroid dapat dipakai sebagai bahan dasar pembuatan hormon steroid dan alkaloid steroid ini dapat mengganggu keseimbangan hormon 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.

Hal tersebut sesuai dengan yang telah dikemukakan oleh De Lucia et al. (1997) bahwa pemberian oral ekstrak Centella secara kronis pada tikus dengan dosis diatas 675 mg/Kg BB akan menunjukkan efek toksisitas rendah. Dosis 675 mg/Kg BB yang diberikan pada tikus setara dengan dosis 94,5 mg/Kg BB yang harus diberikan pada mencit, menurut konversi dosis tikus 200 g ke mencit 20 g yaitu sebesar 0,14 (Kusumawati, 2004).

Menurut Fitriyah (2009), banyak faktor yang mendasari kematian sel termasuk ovum hingga tidak mampu berkembang sampai pada tahapan selanjutnya. Selain proses apoptosis sel yang memang sudah terprogram, lingkungan diluar sel juga turut mengambil peran seperti akibat paparan bahan-bahan dari luar tubuh. Daun pegagan mengandung zat aktif berupa asam asiatik. Pemberian asam asiatik yang berlebih akan menyebabkan apoptosis sel.

Selain itu Menurut Rinidar (2007) senyawa saponin dan flavonoid juga bersifat sitotoksik dan sitostatik, sehingga menyebabkan turunnya jumlah folikel ovarium. Sitotoksik merupakan suatu zat atau senyawa yang mempunyai efek dapat menyebabkan kerusakan dan kematian terhadap sel dari makhluk hidup. Senyawa tersebut dapat berasal dari luar tubuh dan dapat berasal dari dalam tubuh itu sendiri. Pebrian (2008) menambahkan, Senyawa flavonoid diketahui mampu menginduksi terjadinya apoptosis.

Algiansyah (2009) menjelaskan, 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.

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 membran 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 hormon reproduksi akibat asam aiatik 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 adalah estrogen, hormon lutein (LH), hormon perangsang folikel (FSH), progesteron, inhibin, ABP 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 graaf (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 *Reactive Oxygen 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 ini dihasilkan dalam proses metabolisme oksidatif dalam tubuh misalnya pada proses oksidasi makanan menjadi energi. ROS yang paling penting secara biologis dan paling banyak berpengaruh pada sistem reproduksi antara lain superoxide anion ($O_2\cdot^-$),

hydroxyl radicals ($\text{OH}\cdot$), peroxy radicals ($\text{RO}_2\cdot$) dan hydrogen peroxide (H_2O_2) (Tremallen, 2008).

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

Salah satu radikal bebas yang banyak ditemukan di dalam tubuh kita adalah superoksida. Radikal superoksida terbentuk ketika oksigen tereduksi, yang terjadi di membran mitokondria bagian dalam. Radikal ini dapat memicu reaksi berantai pada asam lemak fosfolipid, sehingga terjadi peroksidasi lipid pada membran 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, dan 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.

Reaksi oksidatif yakni ketika radikal oksigen dihasilkan, melebihi antioksidan seluler, hal ini akan menyebabkan peroksidasi asam lemak tak jenuh-ganda pada struktur membran. Peroksidasi lipid juga akan melepas 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 (Muller, 2006).

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.

Semakin banyaknya radikal bebas dalam tubuh maka semakin banyak pula kerusakan sel yang dapat terjadi. Sofia (2006) mengatakan tubuh

manusia menghasilkan senyawa antioksidan, tetapi jumlahnya sering kali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh.

Secara normal tubuh kita berada dalam keseimbangan antara produksi radikal bebas dengan antioksidan, baik antioksidan non-enzimatis maupun enzimatis. Akan tetapi perubahan gaya hidup stress dan aktifitas fisik yang tinggi dapat mengakibatkan terjadinya ketidak seimbangan tersebut (Hallwell, 2001). Superoksida dismutase (SOD) merupakan antioksidan enzimatis selain katalase dan glutathione peroksidase (GSH-PX). Enzim-enzim ini bekerja dengan cara melindungi sel dan jaringan dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas oksigen seperti anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil ($\cdot OH$) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Enzim SOD berfungsi sebagai katalisator reaksi dismutasi dari anion superoksida menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). Sebenarnya enzim ini sudah ada dalam tubuh namun memerlukan bantuan zat gizi seperti Cu, Mn dan Zn agar bisa bekerja optimal.

Salah satu radikal bebas yang banyak ditemukan di dalam tubuh kita adalah superoksida. Radikal superoksida terbentuk ketika oksigen tereduksi, yang terjadi di membrane mitokondria bagian dalam. Radikal ini dapat memicu reaksi berantai pada asam lemak phospholipid, sehingga terjadi peroksidasi lipid pada membran dan hilangnya lapisan membran yang penting untuk fungsi reseptor dan enzim yang terikat pada membran. Dalam keadaan stres

Seperti yang telah kita ketahui bahwa antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat (Winarsih, 2007).

Menurut Kochhar dan Rossell (1990) antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid.

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida, fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon, 1990).

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan (A^*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1990).

Cara kerja senyawa antioksidan adalah bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Utami et al., 2009).

Pernyataan diatas juga dibuktikan dengan hasil pengukuran kadar GSH pada ovarium mencit (*Mus musculus*). Dimana pada pengukuran kadar GSH tidak didapatkan pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak daun pegagan terhadap kadar GSH yang terdapat dalam ovarium mencit hal ini berdasarkan uji ANOVA One Way. Hasil uji ANOVA One way menunjukkan bahwa $F_{hitung} < F_{tabel}$. Sehingga hipotesis nol (H_0) diterima dan hipotesis 1 (H_1) ditolak. Berdasarkan pernyataan tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun pegagan sebagai bahan antifertilitas tidak ada pengaruh yang nyata terhadap kadar GSH pada ovarium mencit, sehingga dimungkinkan tidak terjadi perbaikan sel.

Hal ini berdasarkan fungsi utama dari GSH ini sendiri yakni dalam perbaikan sel. Winarsih (2007), menjelaskan bahwa antioksidan GSH berfungsi sebagai senyawa yang mampu menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul reaktif sehingga mampu mencegah kerusakan sel.

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.

Tidak ada pengaruh kadar GSH yang timbulkan pada penelitian ini mengindikasikan bahwa tidak ada perbaikan pada sel-sel ovarium mencit. Hal ini juga mempengaruhi pembentukan inhibidin pada ovarium mencit yang diperlukan untuk memberikan feedback negatif pada GnRH sehingga pelepasan FSH dan LH berkurang. Berdasarkan pengujian di atas maka dapat disimpulkan bahwa tidak didapatkan adanya perbaikan yang signifikan oleh GSH pada sel ovarium mencit.

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 (perbesaran 10X40) didapatkan pengaruh yang nyata yakni perlakuan perlakuan-1 (dosis 125 mg/kg bb) menunjukkan ketebalan sel granulosa folikel sekunder tertinggi, 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). Sedangkan pada gambaran histologi folikel tersier (perbesaran 10X10) tidak didapatkan adanya pengaruh yang signifikan.

Berdasarkan pengamatan gambaran histologi ini diketahui bahwa semakin tinggi dosis yang digunakan maka semakin tinggi pula tingkat kerusakan dari sel dalam ovarium. Hal ini terlihat dari semakin tipisnya sel ovarium mencit (*Mus musculus*). Zakaria (1996) menjelaskan bahwa antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan tubuh intraseluler yang bekerja pada sitoplasma dan mitokondria, dimana senyawa ini yang memecah senyawa radikal menjadi O_2 dan H_2O .

Peningkatan kadar antioksidan pada dosis 125 mg/kg bb ini, disinyalir dapat memperbaiki kerusakan sel di dalam ovarium yang diakibatkan oleh senyawa-senyawa beracun yang ada di dalam ovarium. Flavonoid yang terdapat dalam pegagan selain dapat menjadi bahan yang bersifat sitotoksik

juga dapat dijadikan sebagai bahan yang dapat membantu dalam memulihkan kerja ovarium.

Mekanisme flavonoid dalam mengobati gangguan fungsi kerja ovarium yaitu dengan cara menghambat reaksi oksidasi yang diakibatkan oleh senyawa-senyawa yang mengandung racun yang masuk ke dalam tubuh. Flavonoid juga menghambat reaksi oksidasi dengan cara bertindak sebagai penangkal radikal bebas sehingga dapat melindungi lipid membran dari berbagai reaksi yang merusak. Penelitian ini menjelaskan akan pentingnya pemakaian obat dalam dosis yang sesuai. Suatu bahan jika digunakan dalam dosis yang baik maka dapat menyebabkan akibat yang baik sedangkan pada penggunaan obat dalam dosis yang berlebihan maka dapat mengakibatkan sitotoksik. Adanyaa efek sitotoksik dapat menyebabkan kerusakan pada organ-organ yang dituju bahkan pada organ-organ lain yang saling bersangkutan. Pemakaian obat yang sesuai dengan aturan dan kadar pemakaian ini juga dijelaskan pada firman Allah SWT yang berbunyi sebagai berikut.

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya : “Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran

(Q.S. Al-Qomar Surat/54 : 49).

Ayat diatas menjelaskan bahwa setiap sesuatu di muka bumi ini tercipta sesuai dengan ukuran masing-masing. Menurut *tafsir Jalalain*, Allah menciptakan segala sesuatu menurut ukuran masing–masing. Kata (بِقَدَرٍ) merupakan kunci penting bagi peneliti untuk penentuan dosis penggunaan

suatu bahan. Keseimbangan *ukuran* yang dimaksud dalam ayat ini yakni keseimbangan dalam pemakaian dosis. Dimana seperti yang telah dijelaskan diatas bahwa suatu obat yang diberikan jika melebihi dosis penggunaan maka dapat menyebabkan toksik. Sifat toksik yang ditimbulkan karena dosis yang berlebih ini nantinya dapat menyebabkan timbulnya penyakit-penyakit lain ataupun kerusakan organ.

