

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2. 1. Deskripsi Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Allah SWT menciptakan berbagai macam tumbuh-tumbuhan di muka bumi sebagai salah tanda-tanda dari kekuasaan-Nya bagi kaum yang berfikir. Sebagaimana firman Allah SWT dalam al--Qur'an surat Ar-Ra'd ayat (13):4:

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَبَّرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزُرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنَوَانٌ وَغَيْرُ صِنَوَانٍ يُسْقَىٰ
بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفْضِلُ بَعْضَهَا عَلَىٰ بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ



Artinya: Dan di bumi itu terdapat bagian-bagian yang berdampingan dan kebun-kebun anggur, tanam-tanaman dan pohon kurma yang bercabang dan tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebagian tanam-tanaman itu atas sebagian yang lain, tentang rasa (dan bentuknya). Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir (Q.S Ar-Ra'd (13):4)

Dari ayat di atas menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan tumbuhan sebagai salah satu tanda dari kekuasaannya. Tafsir al Qurthubi menjelaskan bahwa “tanaman-tanaman dan pohon kurma yang bercabang dan tidak yang tidak bercabang”, dibaca dengan *rafa'* karena berfungsi sebagai *athaf* (yang mengikuti) terhadap lafazh “*Jannaatun*”. Maksud dari penjelasan ini, bahwa di bumi terdapat pohon kurma dan tanaman-tanaman yang bermacam-macam jenisnya (al Qurthubi, 2008). Ada tanaman yang bercabang dan ada tanaman yang tidak bercabang. Kita sebagai makhluk ciptaan Allah SWT yang dibekali dengan akal dan fikiran, maka sepatutnya kita mengagumi ciptaan Allah SWT dan tidak sepantasnya jika kita mengingkari kekuasaan Allah tersebut. Tanam-tanaman (tumbuhan) yang diciptakan Allah SWT terdapat kelebihan yaitu berupa manfaat yang ada di dalamnya salah satunya dapat digunakan sebagai obat. Pegagan

merupakan tanaman yang tumbuh merambat. Pegagan tidak mempunyai batang, banyak bercabang yang dapat membentuk tumbuhan baru. Pegagan selain dimanfaatkan sebagai bahan pangan juga dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Menurut Dasuki (1991), pegagan merupakan tumbuhan berbiji tertutup. Merupakan herba dari famili yang memiliki potensi sebagai obat seperti jinten, seledri dan adas.

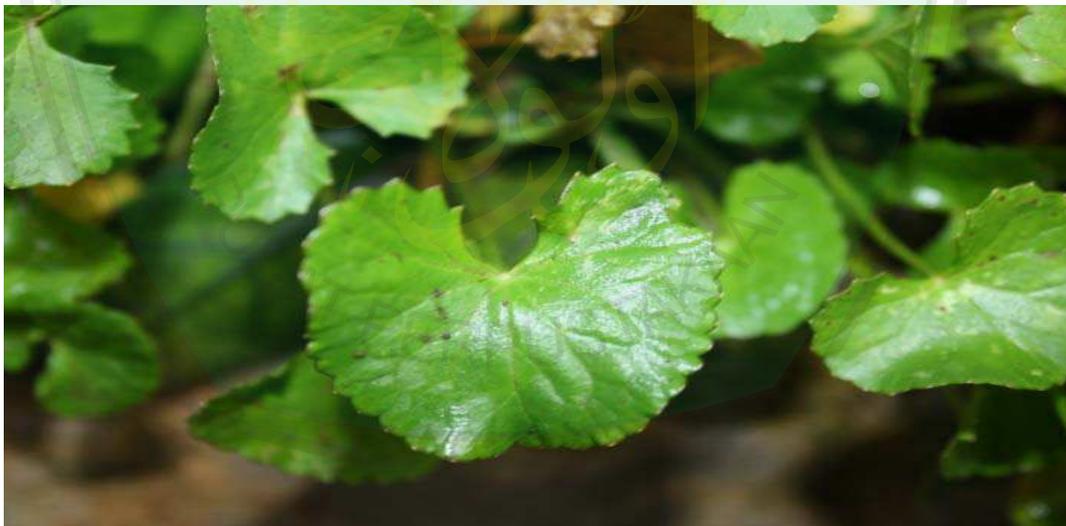
Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) merupakan tumbuhan terna tanpa batang, tahunan dengan pertumbuhan yang menjalar. Spesies *Centella asiatica* (L.) Urban terdiri dari 2 jenis yang meliputi : pegagan merah dan pegagan hijau. Perbedaan mendasar antara pegagan merah dan pegagan hijau terletak pada warna stolon dan tangkai daun (Lasmadiwati, 2004).

Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) ini merupakan tumbuhan berbiji tertutup. Merupakan herba dari famili yang memiliki potensi sebagai obat seperti jinten, seledri dan adas (Dasuki, 1991). Pada umumnya di sebut sebagai Asiatic centella yang termasuk dalam family Umbelliferae. Tumbuhan berupa roset akar dengan tangkai daun yang lunak, perakaran dangkal dan berkembang biak dengan menggunakan stolon (Kumar dan Gupta, 2006).

Stolon pegagan tumbuh di atas permukaan tanah, dan berfungsi sebagai salah satu organ perkembangbiakan selain biji. Menurut Savitri (2006), stolon tumbuh dari sistem perakaran, memiliki ukuran yang panjang dan tumbuh menjalar. Menurut Lasmadiwati (2004), pada setiap buku dari stolon akan tumbuh tunas yang menjadi cikal bakal tumbuhan pegagan yang baru. Tunas akan tumbuh menjadi beberapa daun tunggal yang tersusun dalam roset.

Daun berupa daun tunggal yang tumbuh dari setiap buku pada stolon, permukaan daun kadang berambut, kaku atau kasap dengan pertulangan daun menjari (Lasmadiwati, 2004). Daun berjumlah 2-10 yang tersusun dalam suatu roset akar. Bangun ginjal dengan tepi bergerigi atau beringgit, tangkai daun panjang dan pada pangkal menyerupai pelepah (Savitri, 2006).

Bunga dari tumbuhan pegagan berukuran kecil, tidak bertangkai dan berwarna kemerah-merahan. Bunga-bunga ini tumbuh dalam tirai bunga yang sederhana dan terdiri dari 3-6 bunga. Bunga selanjutnya akan berkembang menjadi buah yang berupa buah buni, berbentuk lonjong atau pipih. Buah berwarna hijau saat muda dan berubah menjadi kecokelatan saat sudah tua. Tumbuh menggantung, berukuran kecil dengan panjang 2 – 2,5 mm. Buah memiliki bau yang cukup harum tetapi rasanya pahit (Lasmadiwati, 2004).



Gambar 2.1. Morfologi pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) (Hardi, 2013).

2.1.1 Klasifikasi Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Menurut Winarto (2003), berdasarkan deskripsi yang telah diuraikan, klasifikasi dari pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) adalah sebagai berikut :

Kingdom Plantae

Divisio Spermatophyta

Sub divisio Angiospermae

Klass Dicotyledone

Ordo Umbilales

Family Umbiliferae (Apiaceae)

Genus Centella

Spesies *Centella asiatica* (L) Urban

2.1.2 Kandungan Bahan Aktif Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)

Pegagan telah banyak dimanfaatkan dimasyarakat sebagai obat. Diantaranya untuk mengobati penyakit seperti infeksi atau batu saluran kemih, susah kencing, demam, darah tinggi, wasir, campak, bisul, mata merah, bengkak, batuk darah dan mimisan. Sejalan dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, manusia ingin memanfaatkan tanaman pegagan sebagai salah satu tanaman yang dapat berkhasiat sebagai obat (Arisandi, 2008).

Berbagai macam tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena mengandung sejumlah zat aktif yang mampu memperbaiki kondisi tubuh yang sakit. Peran tumbuhan untuk pengobatan tidak dijelaskan secara langsung dalam al-Quran, akan tetapi salah satu ayat al-Quran yang mengarah pada kandungan tumbuhan yang bermanfaat dijelaskan dalam surat al-An'aam (6) ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا مِنْهُ
حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ
مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ



Artinya: dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan

dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.

Sepintas ayat tersebut sepertinya tidak berhubungan dengan apa yang akan dibahas dalam penelitian ini, akan tetapi ada hal menarik yang perlu disoroti dari ayat tersebut. Dalam ayat tersebut dikatakan bahwa Allah SWT mengeluarkan dari tumbuh-tumbuhan tanaman yang menghijau dan dari tanaman yang menghijau dikeluarkan bulir yang banyak. Konteks yang ditekankan dalam penelitian ini berawal dari “tanaman yang menghijau”. Dalam konteks biologi, tanaman yang menghijau disebabkan munculnya klorofil. Daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) yang digunakan dalam penelitian ini ternyata mengandung sejumlah bahan aktif golongan triterpenoid yang berada dalam bagian mesofil daun dimana banyak terdapat klorofil di dalamnya.

Secara umum kandungan bahan aktif yang ditemukan dalam pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) meliputi : 1) triterpenoid saponin, 2) triterpenoid genin, 3) minyak esensial, 4) flavonoid, 5) fitosterol, dan bahan aktif lain seperti tanin, asam amino, asam lemak, alkaloid dan garam-garam mineral (Kumar dan Gupta, 2006). Bahan-bahan aktif tersebut secara umum terdapat pada organ daun tepatnya pada jaringan palisade parenkim. Bahan aktif yang terkandung dalam pegagan juga menjadi salah satu alasan mengapa pegagan dimasukkan dalam ordo umbelliferae. Bahan aktif yang terkandung, terutama dari golongan triterpenoid saponin merupakan turunan zat aktif umbelliferon yang terdapat pada tumbuhan pegagan dan tumbuhan bangsa apiales lainnya (Dasuki, 1991).

Kandungan triterpenoid saponin dalam pegagan berkisar 1-8%. Unsur yang utama dalam triterpenoid saponin adalah asiatikosida dan madekassosida (Kumar dan Gupta, 2006). Asiatikosida mampu bekerja sebagai detoksifikasi pada hati dan merupakan marker dalam penentuan standar bahan baku pada *Centella asiatica* (Selfitri, 2008). Madekassosida juga memiliki peran penting karena mampu memperbaiki kerusakan sel dengan merangsang sintesis kolagen. Kolagen sangat penting sebagai bahan dasar pembentuk serat fibroblas. Sebagaimana diketahui bahwa korteks ovarium (tempat perkembangan folikel) tersusun atas serat-serat fibroblast. Dalam triterpenoid saponin ini juga terkandung beberapa unsur lain seperti : centellosida, brahmosida, brahminosida serta B, C dan D centellasaonin yang saling bekerjasama dalam proses sintesa kolagen, akan tetapi unsur-unsur tersebut dalam jumlah yang sangat sedikit (Bonte *et al.*, 1995).

Pegagan mengandung triterpenoid, senyawa yang paling penting dari komponen tanaman ini. Triterpen merupakan kandungan utama yang terdiri dari asam triterpenic pentasiklik dan glikosid, antara lain asam asiatic, asiaticoside, asam mandecassic, madecassoside, brahmoside, asam brahmic, brahminoside, thankuniside, isothankuniside, centalloside, asam madasiatic, asam centic dan senyawa asam lainnya (Zheng, 2007).

Triterpenoid merupakan senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena (Harborne, 1987). Menurut Robinson (1995), triterpenoid jenis tetrasiklik memiliki keserupaan dan kemungkinan adanya kaitan biogenesis dengan steroid. Senyawa ini dianggap sebagai senyawa antara biosintesis steroid,

senyawa ini harus dibuat, sekurang-kurangnya dalam jumlah kecil, oleh semua makhluk yang mensintesis steroid.

Senyawa saponin dapat bekerja sebagai antimikroba dan digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid yang digunakan dalam bidang kesehatan. Inti steroid spiroketal pada saponin mempunyai kerangka karbon dasar yang sama dengan kerangka steroid hewan. (Robinson, 1995). Saponin dimanfaatkan sebagai sumber sapogenin dan dapat diubah menjadi sterol hewan yang berkhasiat penting, misalnya kortison, estrogen kontraseptif dan lain-lain (Harborne, 1987).

Triterpenoid genin terdiri atas beberapa unsur asam. Unsur yang paling dominan adalah asam asiatik. Asam asiatik memegang peran farmakologi penting karena berperan dalam proses apoptosis sel kanker (Hsu *et al*, 2004). Disamping golongan triterpenoid, pegagan mengandung minyak esensial sebesar 0,1% dari seluruh kandungan bahan aktif didalamnya. Minyak esensial ini terbagi menjadi 2 jenis yang meliputi : monoterpen dan sesquiterpen (Kumar dan Gupta, 2006). Monoterpen dan sesquiterpen banyak terdapat pada jaringan parenkim daun pegagan. Minyak esensial ini memberikan wangi yang khas pada tumbuhan pegagan (Dasuki, 1991).

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbanyak terdapat di alam. Senyawa ini bertanggung jawab zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning dalam tumbuhan. Sebagian flavonoid yang terdapat pada tumbuhan terikat pada molekul gula sebagai glukosida. Flavonoid pada tumbuhan mempunyai empat fungsi diantaranya : 1) sebagai pigmen warna, 2) fungsi fisiologi dan patologi, 3) aktifitas farmakologi, terutama yang terkait

dengan kerja pembuluh darah dan 4) sebagai flavonoid tambahan dalam makanan (Jayanti, 2007).

Alkaloid dan flavonoid termasuk dalam golongan fitoestrogen. Fitoestrogen atau sumber estrogen berbasis tumbuh-tumbuhan yang merupakan senyawa non-steroidal mempunyai aktivitas estrogenik atau dimetabolisme menjadi senyawa beraktivitas estrogen. Fitoestrogen merupakan suatu substrat dari tumbuhan yang memiliki khasiat mirip estrogen dan memiliki inti yang sama persis dengan estrogen. Berdasarkan struktur kimianya, seluruh senyawa golongan flavonoid pada tanaman merupakan induk flavon. Flavonoid merupakan senyawa larut air, etanol, methanol, dan mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi. beberapa senyawa fitoestrogen yang terdapat dalam tumbuhan antara lain: *Isoflavon*, *Flavonoid*, *Lignane*, *Glikoside Tripterpen*, *Alkaloid*, *Chalcone*, *Diterpenoid*, *Triterpenoid*, *Coumarine*, dan *Acyclic* (Harborne 1987).

Senyawa alkaloid merupakan senyawa yang mengandung nitrogen dan dikenal sebagai golongan zat metabolit sekunder terbesar yang terdapat pada tumbuhan. Alkaloid seringkali beracun pada manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologis dan digunakan dalam bidang pengobatan. Alkaloid steroid yang dimodifikasi biasanya terdapat sebagai glikosida C-3 atau ester, struktur ini mirip dengan struktur saponin. Sejumlah besar alkaloid bersifat terpenoid dan beberapa (misalnya solanina alkaloid-steroid pada kentang) sebagai terpenoid termodifikasi (Harborne, 1987 dan Robinson, 1995).

Tanin diketahui dapat menghambat pertumbuhan sel tumor, sehingga diduga juga bersifat sitotoksik terhadap perkembangan folikel (folikulogenesis). Sel folikel berasal dari sel epitel germinal sehingga dengan adanya efek sitotoksik

dari senyawa tersebut pada tingkat awal sel germinal, maka akan menyebabkan sel tersebut selanjutnya tidak bisa berkembang menjadi sel folikel (Robinson, 1991).

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. Ketiga senyawa fitosterol tersebut terbukti mampu bekerja baik untuk mengurangi kolesterol total dan LDL kolesterol dalam darah (Tisnajaya dkk, 2005).

2.2 Morfologi dan Anatomi Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Mencit merupakan salah satu hewan darat berkaki empat yang telah diciptakan oleh Allah SWT dan telah membawa banyak manfaat, salah satunya dalam proses penelitian sebagai hewan coba. Sebagaimana firman Allah SWT dalam al-Qur'an surat An-Nur (24):45 tentang penciptaan hewan sebagai berikut :

وَاللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَابَّةٍ مِّن مَّاءٍ فَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ بَطْنِهِۦ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ رِجْلَيْنِ وَمِنْهُمْ مَّن يَمْشِي عَلَىٰ أَرْبَعٍ تَخْلُقُ اللَّهُ مَا يَشَاءُ ۗ إِنَّ اللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

Artinya: dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, Maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, Sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu.

Penjelasan dari surat an-Nur ayat 45 tersebut tentang tata cara hewan dalam berjalan, hewan melata dengan perutnya, yaitu: belut, ular, cacing, bekicot, lele. Hewan melata dengan 2 kaki, yaitu: ayam, burung dara, merpati, puyuh, bebek termasuk di dalamnya manusia. Hewan melata dengan 4 kaki, yaitu: tikus

putih, mencit, hamster, cicak, beruang. Hewan yang berjalan dengan kaki lebih dari 4, seperti contohnya kepiting (al Qurthubi, 2009).

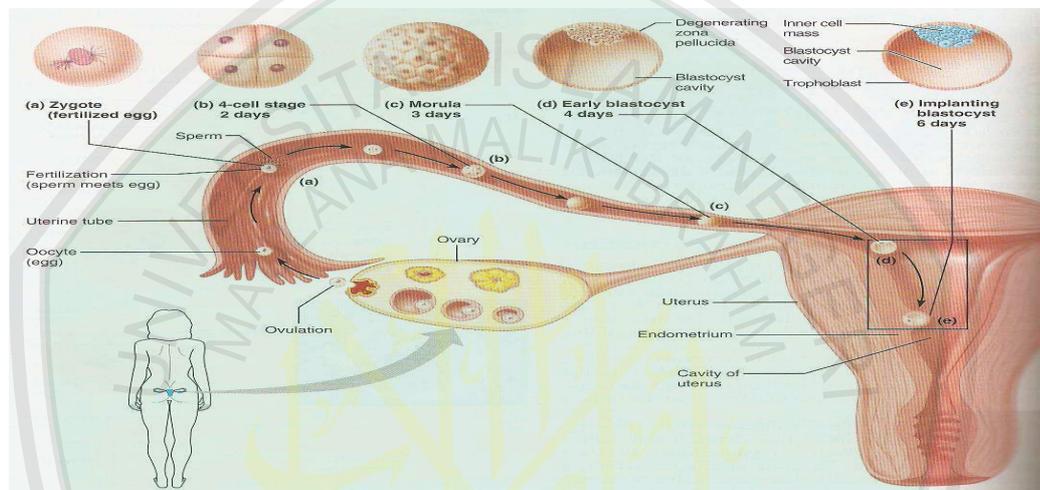
Pada penelitian ini, mencit dipilih menjadi subyek eksperimental sebagai bentuk relevansinya pada manusia. Walaupun mencit mempunyai struktur fisik dan anatomi yang berbeda dengan manusia, tetapi mencit adalah hewan mamalia yang mempunyai beberapa ciri fisiologi dan biokimia yang hampir menyerupai manusia (Syahrin, 2006).

Mencit (*Mus musculus*) merupakan hewan politocous karena mempunyai kemampuan menghasilkan anak lebih dari satu dalam setiap kelahiran. Hewan-hewan pilotocous memiliki bentuk ovarium seperti buah murbei. Morfologi buah murbei sangat tepat untuk menggambarkan kondisi morfologi ovarium mencit. Sebagaimana kita ketahui buah murbei memiliki bentuk lonjong dengan permukaan tidak rata dan memiliki granula-granula yang tidak sama besar. Kondisi tersebut dapat dijadikan gambaran bahwa pada permukaan ovarium (bagian korteks) terdapat banyak folikel dalam berbagai tahap perkembangan dengan ukuran berbeda. Kondisi tersebut menyebabkan penampilan permukaan ovarium yang tidak rata (bergranula). Ovarium mencit memiliki dua bagian utama yang terdiri atas korteks dan medula (Partodihardjo, 1992).



Gambar 2.2 Mencit dan anak mencit (Wardanela, 2008)

Ovarium mempunyai dua fungsi, sebagai organ eksokrin yang menghasilkan sel telur atau ovum dan sebagai organ endokrin yang mensekresikan hormon-hormon kelamin betina, estrogen dan progesteron (Toelihere, 1977). Ovarium berjumlah sepasang, di kanan kiri uterus dalam rongga pelvis. Diikatkan ke dinding dorsal tubuh pada *broad ligament* uterus oleh *mesovarium* (Yatim, 1996).



Gambar 2.3 Anatomi reproduksi betina (Sherwod, 2005)

Jaringan dasar ovarium disebut *stroma*, yang mengandung serat jaringan ikat, otot polos, dan pembuluh darah. Badan ovarium terdiri dari 2 daerah, yaitu korteks dan medulla (Yatim, 1996). Korteks adalah lapisan stroma luar yang rapat. Korteks mengandung folikel ovarian, yaitu unit fungsional ovarium (Sloane, 2003). Folikel pada ovarium berasal dari epitel benih yang melapisi permukaan ovarium (Partodihardjo, 1982). Jumlah folikel itu ada sekitar 2 juta butir waktu bayi lahir, dan menjelang akil baligh jumlahnya berkurang jadi sekitar 300.000 butir. Jumlah akan terus berkurang sampai ovarium menghasilkan ovum (Yatim, 1996).

Manusia adalah makhluk yang Allah SWT ciptakan dengan sempurna. Semua unsur yang menyusun tubuh kita diciptakan Allah SWT dalam kondisi

seimbang sehingga dapat kita rasakan fungsinya. Sebagaimana firman Allah SWT dalam al-Qur'an surat Al-Infithar (82):7-8 :

الَّذِي خَلَقَكَ فَسَوَّاكَ فَعَدَلَكَ ﴿٧﴾ فِي أَيِّ صُورَةٍ مَّا شَاءَ رَكَّبَكَ ﴿٨﴾

Artinya: yang telah menciptakan kamu lalu menyempurnakan kejadianmu dan menjadikan (susunan tubuh)mu seimbang, dalam bentuk apa saja yang Dia kehendaki, Dia menyusun tubuhmu (Al-Infithar (82):7-8)

Kata *fa'adalaka* terambil dari kata '*adl* yang berarti seimbang. Allah SWT menciptakan manusia dengan menjadikan bentuk tubuh manusia seimbang sehingga tampak harmonis. Bagian-bagian tubuh seperti indera penglihatan, indera pendengar, indera perasa, bahkan sistem saraf pusat tersusun secara rapi sesuai dengan struktur dan fungsi tubuh. Allah SWT anugerahkan akal dan jiwa yang menjadi salah satu keistimewaan bagi manusia dibandingkan dengan makhluk Allah SWT yang lain (Shihab, 2003).

Ovarium menciit memiliki dua bagian utama yang terdiri atas korteks dan medula (Partodihardjo, 1992). Korteks adalah bagian kulit ovarium, terletak dibawah epitel germinal. Terdiri dari jaringan ikat interstitial, yang disebut stroma. Stroma kortek terdiri dari jalinan serat retikuloosa dan sel bentuk gelendong mirip otot polos.. Korteks tersusun atas jaringan-jaringan penghubung yang meliputi : fibroblast, kolagen, serat-serat retikular, pembuluh darah, pembuluh limpatik, saraf dan serat-serat otot polos. Korteks merupakan daerah tepi yang lebar, mengandung folikel dan korpul luteum. Korteks juga merupakan tempat pembentukan hormon (Hafez, 1993).

Medula adalah bagian sumsum ovarium. Batas korteks dan medula tidak begitu jelas. Medula dibina atas jaringan ikat yang banyak mengandung pembuluh darah, sehingga disebut juga zona vasculosa (Yatim, 1990). Medula menyatu

dengan jaringan ikat vascular mesovarium di hilus. Tidak terdapat garis pembatas diantara kedua bagian tersebut. Stromanya mengandung tebaran berkas otot polos. Medula terdiri atas jaringan ikat fibroelastis longgar yang mengandung pembuluh darah besar, pembuluh limfa dan saraf (Leeson, 1996).

2.3 Fisiologi Ovarium Mencit (*Mus musculus*)

Fisiologi ovarium sangat erat kaitanya dengan pembentukan dan perkembangan folikel (folikulogenesis). Folikulogenesis merupakan proses dimana sel-sel germinal di ovarium berkembang diantara sel-sel somatik serta menjadi matur dan mampu untuk difertilisasi. Folikulogenesis diatur oleh sinyal-sinyal di dalam ovarium dan hormon-hormon dari hipofisa (Suheimi, 2007). Menurut Partodihardjo (1992), perkembangan folikel ovarium melalui beberapa tahap yaitu pembentukan folikel primer, pembentukan folikel sekunder, pembentukan folikel tertier dan pembentukan folikel de graaf.

Tahap pertama merupakan tahap pembentukan folikel primer yang berasal dari satu sel epitel benih yang membelah diri. Sel yang nantinya akan menjadi ovum berada ditengah-tengah dikelilingi oleh sel-sel kecil hasil pembelahan tadi yang nantinya akan berkembang menjadi sel granulosa. Stadium pertama pertumbuhan folikel adalah pembesaran ovum yang diikuti oleh perkembangan lapisan-lapisan sel granulosa sekitar ovum (Partodihardjo, 1992).

Tahap kedua merupakan tahap pertumbuhan folikel sekunder. Terjadi pada waktu hewan betina telah lahir dan menjalani proses pendewasaan tubuh. Folikel sekunder ini bentuknya lebih besar karena jumlah sel-sel granulosanya lebih banyak, ovumnya telah memiliki pembungkus tipis yang disebut dengan membrana vitelin, apabila diluar membran vitelin sudah terdapat satu lagi

membran yang lebih tebal yang disebut dengan zona pelusida (Partodihardjo, 1992). Selapis tebal zona pellucida mengelilingi oosit yang tersusun paling sedikit 3 glikoprotein yang berbeda. Oosit dan sel-sel folikular (sel-sel granulosa) memberikan kontribusi pada sintesis zona. Pada akhir tahap perkembangan ini, beberapa lapisan dari sel-sel yang menyerupai jaringan ikat dibentuk di sekitar lamina basalis yang nantinya disebut sebagai lapisan teka (Junquiera,1982).

Tahap ketiga merupakan tahap pertumbuhan folikel tertier. Pertumbuhan menjadi folikel tertier ini terjadi pada waktu hewan menjadi dewasa dan dilanjutkan pada siklus birahi. Folikel tertier ditandai dengan ukuran yang lebih besar dari pada folikel sekunder dan letaknya lebih jauh dari korteks. Selain itu pada folikel tertier juga ditandai dengan terbentuknya antrum (Partodihardjo, 1992). Dengan berlanjutnya perkembangan folikel tertier, maka akan terbentuk dua lapisan sel teka yaitu lapisan dalam teka interna yang berdiferensiasi di dalam sel teka interstitial dan lapisan luar teka eksterna yang berdiferensiasi menjadi sel otot polos. Sel teka berasal dari stroma ovarium dan segera bersifat epitheloid dan berfungsi menyekresi bagian terbesar esterogen, sedangkan sel-sel granulosa akan menyekresikan progesteron (Guyton, 1995).

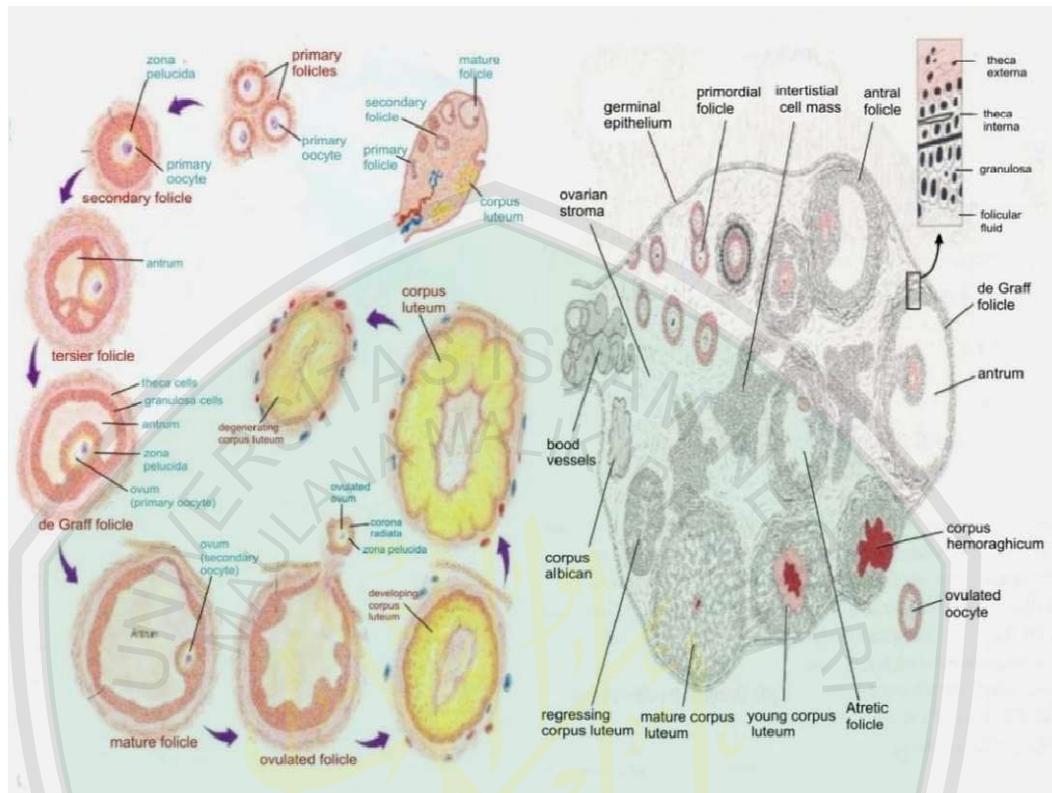
Teka eksterna terdiri dari sel otot polos yang tersusun secara konsentris, yang mana dipersarafi oleh saraf otonom. Teka interna mengandung kumpulan dari sel-sel epitel besar yang disebut sel teka interstitial. Sel teka interstitial memiliki reseptor sel untuk LH dan insulin. Sebagai respon terhadap stimulasi LH dan insulin, sel tersebut akan menghasilkan kadar androgen tinggi, umumnya androstenedion. Teka interna banyak menerima vaskularisasi yang berasal dari

jalanan kapiler longgar yang mengelilingi folikel Graaf saat proses pertumbuhan (Partodihardjo, 1992).

Tahap keempat merupakan tahap perkembangan dari folikel tertier menuju folikel de Graff. Tahap ini terjadi beberapa hari menjelang estrus. Dalam folikel de Graff, ovum terbungkus oleh masa sel yang disebut dengan cumulus ooporus. Telur bersama dengan massa sel yang membungkusnya menonjol ke dalam ruang antrum yang penuh dengan cairan folikel. Pada umumnya telur ini terletak dibagian yang berhadapan dengan bagian folikel yang nantinya akan pecah pada waktu ovulasi. Hanya kadang-kadang saja telur terletak tepat pada bagian yang akan pecah pada waktu ovulasi. Komponen lain dari folikel de graaf adalah sel-sel granulosa. Sel-sel ini melapisi dinding antrum, juga menjadi cumulus oophorus; massa sel granulosa yang membungkus sel telur dan terletak paling dekat dengan telur disebut *corona radiata* (Partodihardjo, 1982).

Pecahnya folikel de graaf dan keluarnya ovum dari dalam folikel disebut peristiwa ovulasi. Dinding folikel mula-mula retak dibagian stigma, yaitu suatu tempat di bagian permukaan folikel yang menonjol keluar dari bagian badan ovarium; lalu cairan folikel meleleh keluar. Bersama keluarnya cairan folikel inilah ovum keluar. Jaringan folikel yang masih tetap ada di ovarium setelah ovulasi berkembang menjadi korpus luteum, yaitu jaringan endokrin yang mensekresikan hormon betina selama fase luteal (luteal phase) siklus ovarium (Campbell, 2004). Pada ovarium ditemukan dua corpus, yaitu corpus luteum dan corpus albicans. *Corpus luteum* atau disebut *yellow body* berasal dari folikel de graaf yang telah berovulasi. Disebut badan kuning karena sel-sel granulosanya yang mengandung pigmen lipokrom yang berwarna kuning. Corpus luteum selain mengandung sel

granulosa, juga jaringan ikat yang berasal dari teca interna. Antrum dimasuki darah serta jaringan ikat (Yatim, 1996).



Gambar 2.4 Histologi Ovarium (Campbell, 2007)

Ovulasi folikel yang tinggal bersama teca interna menjadi suatu badan. Badan ini tampak kekuningan sehingga disebut badan kuning atau corpus luteum. Sel folikelnya yang biasa pula disebut sel granulosa karena banyak mengandung granula, mensekresi progesterone dan estrogen. Progesteron mengontrol implantasi embrio dalam uterus dan mencegah terjadinya pertumbuhan folikel baru serta ovulasi. Liquor folliculi-nya sudah terperas keluar ketika proses ovulasi dan bekas antrum diisi dengan jaringan ikat. Sel granulosa kini disebut sel lutein granulosa. Sitoplasma berisi lipokhrom, pigmen kuning. Itulah yang menyebabkan badan itu berwarna kuning. Lapisan luar badan ini terdiri dari sel lutein theca, yang asalnya adalah dari theca interna folikel. Jika tidak terjadi

kehamilan atau implantasi, umur corpus luteum hanya dua minggu. Kemudian berdegenerasi dan hilang. Setelah itu terjadi haid. Jika terjadi kehamilan, plasenta menghasilkan hormone gonadotropin. Hormon ini merangsang corpus luteum untuk lebih aktif menghasilkan progesteron dan estrogen (Yatim, 1996).

Proses terbentuknya korpus luteum yaitu setelah terjadinya ovulasi, rongga folikel terisi oleh darah dan cairan limfe akibat terjadinya pendarahan dalam folikel, sehingga membentuk struktur yang disebut korpus haemorrhagicum (Hafez, 1993). Dengan adanya pendarahan, hewan betina tidak lagi birahi dan memasuki fase luteal. Fase luteal darah yang ada akan membeku dalam rongga folikel diresorpsi dan proses luteinasai dimulai sehingga terbentuklah korpus luteum oleh sel-sel granulosa dan sel-sel teka (Nalbandov, 1990). Bila terjadi kebuntingan, korpus luteum akan dipertahankan dan dikenal dengan nama korpus luteum graviditatum, namun jika tidak terjadi kebuntingan maka korpus luteum akan mengalami regresi (Thomaszewska, 1991).

Pada permulaan siklus seksual wanita setiap bulan, pada sekitar permulaan menstruasi, konsentrasi FSH dan LH meningkat. Peningkatan ini menyebabkan percepatan pertumbuhan sel teka dan sel granulosa sekitar 20 folikel ovarium setiap bulan. Sel teka dan sel granulosa juga menyekresikan cairan folikular yang mengandung estrogen konsentrasi tinggi. Penimbunan cairan ini dalam folikel menyebabkan terbentuk antrum dalam sel-sel teka dan sel granulosa. Setelah antrum ini terbentuk, sel teka dan granulosa terus mengadakan proliferasi, kecepatan sekresi bertambah cepat, dan setiap folikel yang sedang tumbuh menjadi folikel vesikular. Bila folikel vesikular terus membesar, sel teka dan

granulosa terus berkembang pada salah satu kutub folikel. Dalam massa ini terletak ovum (Guyton, 1995).

Dalam pertumbuhan dan perkembangannya, folikel-folikel ovarium akan mengalami proses kematian sel (apoptosis) yang mengakibatkan folikel menjadi atresia. Kehidupan dan kematian merupakan dua hal yang selalu terjadi pada setiap sel. Apoptosis bertujuan untuk menjaga keseimbangan fungsi sel dalam tubuh manusia. Firman Allah SWT dalam al-Qur'an surat Al-Mulk (67) ayat 3-4:

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا ۗ مَا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفَوتٍ ۗ فَارْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ ﴿٣﴾ ثُمَّ ارْجِعِ الْبَصَرَ كَرَّتَيْنِ يَنقَلِبْ إِلَيْكَ الْبَصَرُ خَاسِئًا وَهُوَ حَسِيرٌ ﴿٤﴾

Artinya: yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, Adakah kamu Lihat sesuatu yang tidak seimbang? kemudian pandanglah sekali lagi niscaya penglihatanmu akan kembali kepadamu dengan tidak menemukan sesuatu cacat dan penglihatanmu itupun dalam Keadaan payah.

Dalam Tafsir al Misbah menyebutkan bahwa, kata *tafawut* pada mulanya berarti kejauhan. Dua hal yang berjauhan mengesankan ketidakserasian. Dari sini kata tersebut diartikan tidak serasi dan tidak seimbang. Bahwa Allah SWT menciptakan langit dan seluruh makhluknya dalam keadaan seimbang sebagai rahmat, karena seandainya ciptaan Allah SWT tidak seimbang, maka tentulah akan terjadi kekacauan antara yang satu dengan yang lainnya dan pada akhirnya akan mengganggu kenyamanan hidup manusia di bumi (Shihab, 2003).

Dari ayat di atas, dapat dipetik suatu makna bahwa Allah SWT menciptakan sesuatu tidak ada yang tidak seimbang. Semuanya diberikan-Nya dengan seadil-adilnya. Kita bisa beraktifitas dengan sempurna karena ada kerjasama antar sel-sel dalam tubuh. Allah SWT telah mengatur semuanya dengan

sempurna dan tanpa cacat. Sel-sel yang mengalami penuaan ataupun kerusakan akan mengalami apoptosis sel. Apoptosis bertujuan untuk keseimbangan sel dalam tubuh.

Menurut Junquiera (1982), semua folikel yang gagal berkembang menjadi layu, mungkin sebagai folikel primer atau setelah tingkat apapun selama perkembangan folikel. Pengisutan folikel ini disebut atresia. Peristiwa tersebut diikuti oleh kelayuan folikel. Pada atresia folikel primer, ruang yang terbentuk didisi dengan stroma. Atresia pada folikel berkembang peristiwanya lebih rumit, seperti pada atresia folikel primer, tanda kelayuan dimulai pada telur dan sel folikel. Zona pellucida mengembang dan bertahan untuk beberapa lama sesudah hilangnya telur dan folikel. Sel teka interna berkembang mirip seperti pada korpus luteum. Sel tersebut membesarkan ukurannya, tersusun dalam jajaran mirip jari-jari dan berpembuluh darah. Sesudah penyerapan sel-sel folikel sel teka menjadi layu dan digantikan dengan jaringan ikat.

Menurut Usman (2008), apoptosis merupakan kematian sel yang terprogram yang diatur secara genetik. Apoptosis merupakan proses penting dalam pengaturan homeostatis normal untuk menghasilkan keseimbangan jumlah sel yang ditandai oleh kondensasi kromatin, fragmentasi sel dan fagositosis sel. Kondensasi kromatin atau yang lebih dikenal dengan piknotik merupakan gambaran apoptosis yang paling khas. Kromatin mengalami agregasi diperifer di bawah selaput dinding inti menjadi massa padat yang terbatas dalam berbagai bentuk dan ukuran. Intinya sendiri dapat pecah membentuk 2 fragmen atau lebih. Sel apoptotik yang mengalami fragmentasi selanjutnya akan menjadi beberapa badan apoptosis yang berikatan dengan membran yang disusun oleh sitoplasma

dan organela padat tanpa fragmen inti. Badan apoptosis yang terbentuk kemudian akan difagositosis oleh sel-sel disekitarnya, baik sel-sel parenkim maupun sel-sel makrofag, untuk kemudian didegradasi dalam lisosom.

Sebagai akibat dari proses apoptosis tersebut, maka akan terbentuk folikel atresia. Atresia merupakan proses degenerasi dimana oosit mati tanpa keluar melalui ovulasi. Pada peristiwa atresia ini folikel berdegenerasi bersama-sama dengan oosit tanpa memandang stadium perkembangannya (Geneser, 1994). Atresia terjadi pada semua stadium perkembangan folikel, bisa spontan atau sebagai respon faktor lingkungan atau obat-obatan. Atresia spontan utamanya karena ketidakhadiran faktor trofi esensial pada saat kritis pembentukan atau maturasi sel. Pada mekanisme atresia ini, telah terjadi eliminasi pada oosit dan sel-sel granulosa (Winda, 2006).

2.4 Peran Hormon Reproduksi Betina

Ovarium mensintesis estrogen, progesteron, androgen dan suatu hormon nonsteroid yang disebut dengan relaksin. Kebanyakan peneliti sepakat bahwa folikel ovarium yang masak merupakan sumber penting estrogen. Akan tetapi kebanyakan bukti berimplikasi bahwa membran granulosa dan teka interna sebagai sumbernya. Kegiatan fisiologis dalam ovarium hampir tidak terlepas dari peranan hormon, termasuk aktivitas folikulogenesis. Aktivitas pertumbuhan dan perkembangan folikel ovarium dipengaruhi oleh beberapa hormon, diantaranya :

- 1) Lutein Hormon (LH),
- 2) Follicle Stimulating Hormon (FSH),
- 3) Estrogen dan
- 4) Progesteron (Turner, 1988).

Hipotalamus mensekresi GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) yang merangsang kelenjar hipofisis anterior untuk mensekresi *Folicle Stimulating*

Hormone (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH). Kedua hormon ini memegang peranan utama mengatur fungsi seksual betina. FSH dibawa melalui aliran darah menuju ovarium dan mengawali proses proliferasi folikel. Selanjutnya, LH akan menyelesaikan proses pembentukan dan pematangan folikel ovarium (Prajogo, 2007).

Lutein Hormon (LH) berperan merangsang sel-sel teka pada folikel yang masak untuk memproduksi esterogen, selanjutnya oleh karena kadar esterogen yang tinggi ini produksi LH menjadi semakin tinggi dan ketinggian kadar LH ini menyebabkan terjadinya ovulasi (Partodihardjo, 1992). Dibawah pengaruh LH, folikel yang telah berkembang akan menyekresikan estrogen dan progesteron. LH menyebabkan terjadinya ovulasi dan juga mempengaruhi korpus luteum untuk menyekresikan estrogen dan progesteron. Proses terakhir ini disebut dengan laktogenik, yang pada beberapa spesies berada di bawah pengaruh prolaktin (Suherman, 1995). Pada fase folikular siklus ovarium, LH menstimulasi steroidogenesis sel teka, yang memberikan androgen untuk aromatisasi sel granulosa (Winda, 2006).

FSH mempunyai fungsi utama untuk merangsang pertumbuhan folikel pada ovarium, tetapi tidak menyebabkan ovulasi (Partodihardjo, 1992). FSH dibentuk oleh sel-sel basophil dari lobus anterior hipofisa, dimana pembentukan FSH ini akan berkurang pada pembentukan esterogen dalam jumlah cukup, suatu keadaan yang dapat dikatakan sebagai umpan balik negatif (Sastrawinata, 1983). FSH diperlukan untuk transisi sekunder folikel preantral untuk masuk stadium antral. Salah satu kerja FSH adalah menginduksi aromatisasi di sel granulosa dan juga menginduksi sitokrom P450 reduktase. FSH menginduksi reseptor LH di sel

granulosa folikel provulatori dan pada tahap akhir pematangan, LH dapat mengikuti fungsi FSH (Winda, 2006).

Sintesis dan sekresi FSH dan LH dirangsang oleh Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) yang disekresi oleh hipotalamus. Hormon ini mulai bekerja saat hewan mencapai masa pubertas (kematangan kelamin). FSH dan LH dibutuhkan untuk perkembangan folikel di ovarium. Perkembangan awal sel folikel dikendalikan oleh FSH yang selanjutnya merangsang sel granulosa dan sel teka ovarium untuk mensekresi estrogen. Sedangkan progesteron terdapat dalam jumlah sedikit pada awal perkembangan sel folikel produksi progesteron mulai meningkat di bawah pengaruh LH (Partodihardjo, 1992). Perkembangan akhir sel folikel dikendalikan oleh LH dan selanjutnya LH mendorong pecahnya folikel dan ovulasi (Nalbandov, 1990).

Sintesis hormon estrogen terjadi didalam sel-sel theka dan sel-sel granulosa ovarium, dimana kolesterol merupakan bahan baku dari hormon ini, yang pembentukannya melalui beberapa serangkaian reaksi enzimatik. Estrogen (terutama estradiol), sebagian besar dibentuk oleh folikel berkembang. Estrogen merangsang tumbuh kembangnya alat reproduksi wanita dan kelenjar mammae (Leeson, 1996). Estrogen disintesis dari kolesterol terutama di ovarium, dan di kelenjar lain misalnya korteks adrenal, testis, dan plasenta. Kemudian melalui beberapa reaksi enzimatik dalam biosintesis steroid terbentuklah hormon steroid. Estrogen dibentuk dari androstenedion maupun testosterone yang mempunyai 4 cincin siklik dengan 19 atom C. Pada wanita, estrogen secara langsung mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan organ kelamin primer yaitu vagina, serviks uterus dan tuba falopii. Akibat pengaruh estrogen, sekret kelenjar

vagina dan serviks menjadi lebih cair dan jumlahnya bertambah banyak, dan kelenjar serta pembuluh darah endometrium mengalami proliferasi (Suherman, 1995).

Progesteron memiliki aksi yang bervariasi terhadap organ reproduksi betina, dan dibawah kondisi fisiologik sering bekerja secara sinergik dengan estrogen. Progesteron terdapat dalam ovary, testis, korteks adrenal dan plasenta (Turner, 1988). Progesteron merupakan substansi intermedia dari sintesa androgen, estrogen dan cortisol. Dalam cairan folikel telah diketahui mengandung banyak estrogen, dan sedikit progesteron merupakan keterangan bahwa pembentukan progesteron telah dimulai sebelum folikel pecah dan sebelum korpus luteum terbentuk (Partodihardjo, 1992). Metabolit progesteron yang utama di dalam urin ialah pregnandiol dan prenantriol, dan senyawa ini dibuang terutama sebagai glukuronid. Dulu diduga bahwa sintesis progesteron oleh sistem dapat secara tepat diukur oleh kuantitas pregnandiol yang diekskresikan lewat urin., namun sekarang diketahui bahwa metabolit ini dapat juga berasal dari deoksikortikosteron korteks adrenal. (Turner, 1988).

Hormon progesteron berfungsi sebagai *releasing factor* di hipotalamus yang menyebabkan pembesaran Luteinizing hormon (LH) dari pituitari anterior. LH berfungsi merangsang sel-sel granulosa dan sel-sel techa pada folikel yang masak untuk memproduksi estrogen. Kadar estrogen yang tinggi menyebabkan produksi LH semakin tinggi. Tingginya kadar LH menyebabkan terjadinya proses ovulasi pada folikel yang masak (Partodihardjo, 1992).

Pada tikus, hormon folikulotropin (FSH dan LH) merangsang perkembangan folikel dan sekresi estrogen. Estrogen memberi umpan balik pada

hipotalamus berupa pesan bahwa folikel telah matang. Estrogen juga merangsang timbulnya gelombang puncak LH yang menyebabkan terjadinya ovulasi. LH kemudian merangsang sekresi progesteron, selanjutnya bersama estrogen akan menimbulkan libido seksual pada tikus (Turner, 1988).

2.5 Mekanisme Bahan Aktif Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban)

Centella asiatica (L.) Urban mengandung bahan aktif triterpenoid saponin. Dalam kajian fertilitas, komposisi triterpenoid saponin ini sangat dibutuhkan untuk melindungi sel-sel granulosa. Hal tersebut dikarenakan pada sel-sel granulosa terdapat reseptor-reseptor hormon FSH. Reseptor FSH hanya ditemukan di sel-sel granulosa yang penting untuk mengendalikan perkembangan folikel. Selain FSH sebagai regulator utama perkembangan folikel dominan, growth faktor yang dihasilkan oleh folikel dapat bekerja melalui mekanisme autokrin dan parakrin, memodulasi kerja FSH, dan menjadi faktor penting yang berpengaruh (Suheimi, 2007).

Senyawa triterpenoid dapat meningkatkan senyawa steroid dalam darah (Elyal, 2002). Peningkatan kadar steroid dalam darah disebabkan oleh senyawa triterpenoid yang memiliki keserupaan dan kemungkinan adanya kaitan biogenesis dengan steroid dan steroid merupakan bahan baku untuk mensintesis hormon estrogen. Meningkatnya kadar steroid akan diikuti pula dengan meningkatnya hormon estrogen (Rhobinson, 1995).

Kadar estrogen yang normal dalam darah berfungsi memelihara dan mempertahankan folikel. Sebaliknya, kadar estrogen yang tinggi di atas kadar fisiologis akan menghambat folikulogenesis (Handelsman, 2000). Meningkatnya hormon estrogen akan menyebabkan mekanisme umpan balik negatif terhadap

hipotalamus untuk menekan sekresi GnRH. Penurunan sekresi GnRH akan menyebabkan penurunan sekresi FSH dan LH yang diproduksi oleh pituitar anterior (Sherwood, 2005). Penurunan kadar FSH dapat mempengaruhi sel granulosa dalam menghasilkan zat-zat gizi, hormon dan enzim yang penting untuk perkembangan folikel (Partohiharjo, 1992).

Senyawa saponin merupakan larutan berbuih dan diklasifikasikan oleh struktur aglycon ke dalam triterpenoid dan steroid saponin. Kedua senyawa tersebut mempunyai efek anti inflamasi, analgesik dan sitotoksik. Senyawa triterpenoid merupakan glikosida yang dapat bersifat sitotoksik, yaitu dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan sel pada tingkat awal sel germinal dengan mengganggu proses mitotik sel. Kemungkinan lain adalah karena bahan aktif saponin tersebut mengganggu poros hipotalamus hipofisis ovarium. Sebagaimana sifat bahan antifertilitas lainnya, saponin bersifat esterogenik sehingga akan mempengaruhi siklus menstruasi dan perkembangan folikel. Ada dugaan bahwa kemungkinan saponin yang bersifat esterogenik ini turut aktif meningkatkan kadar estrogen efektif di dalam darah. Oleh karena tingginya kadar estrogen dalam darah dapat menghambat hipofisis dalam mensekresikan hormon gonadotropin (FSH) melalui umpan balik negatif. Menurunnya kadar FSH mengakibatkan terhambatnya perkembangan folikel di dalam ovarium (Adimuca, 1996).

Senyawa fitokimia pada dasarnya bekerja dengan dua mekanisme yaitu melalui efek sitotoksik dan melalui efek gangguan terhadap keseimbangan sistem hormonal. Golongan senyawa flavonoid dan alkaloid bekerja dengan menggunakan efek hormon (Gruber, 2002). Menurut Robinson (1995) isoflavon

dari golongan flavonoid, saponin dan alkaloid merangsang pembentukan estrogen pada mamalia, dan dari strukturnya ada kemiripan dengan hormon estrogen.

Flavonoid mampu berikatan dengan reseptor estrogen (RE), di dalam tubuh ada dua reseptor estrogen yaitu reseptor estrogen alfa ($RE\alpha$) dan reseptor estrogen beta ($RE\beta$). Reseptor estrogen α terdapat pada organ uterus, testis, hipofisis, ginjal, epididimis, adrenal, dan payudara. Sedangkan reseptor estrogen β terdapat di ovarium, prostat, paru-paru, kandung kemih, dan tulang (Barnes dan Kim 1998).

Efek estrogenik disebabkan dengan adanya ikatan antara fitoestrogen dengan reseptor estrogen sehingga terjadi pengaktifan reseptor estrogen. Reseptor estrogen yang telah aktif akan berinteraksi dengan ERE (estrogen Response Element) yang terdapat dalam nukleus sehingga mampu menginduksi ekspresi estrogen responsive gene. Hal ini akan memicu terjadinya sintesis estrogen. Kadar estrogen yang meningkat akan memberikan umpan balik negatif terhadap poros hipotalamus hipofisisovarium yang kemudian akan menurunkan sekresi FSH maupun LH. Folikel stimulating hormon (FSH) dan lutiening hormon (LH) ini berperan dalam sintesis hormon estrogen dan progesteron pada ovarium. (Junquiera, 1982). Alkaloid, saponin, tanin dan triterpenoid bekerja berdasarkan efek sitotoksik yaitu mengganggu perkembangan sel baik sel ovum di ovarium sehingga sintesis hormon progesteron dan estrogen juga akan terganggu ataupun sel penyusun lapisan endometrium maupun miometrium (Robinson, 1995).

Hormon estrogen merupakan hormon utama pada hewan betina, dalam proses pembentukannya melibatkan 2 sel yaitu sel teka dan sel granulosa. Sel teka akan berkembang di bawah pengaruh *Luteinizing Hormone* (LH) dan sel

granulosa akan berkembang di bawah pengaruh *Follicle Stimulating Hormone* (FSH). Di dalam sel teka yang berkembang, estrogen disekresikan mulai dari proses perubahan asetat menjadi kolesterol kemudian berubah menjadi pregnenolon dan berubah lagi menjadi progesteron. Dari progesteron berubah menjadi androstenedion dengan bantuan enzim 17α -hidroksi progesteron, kemudian berubah menjadi testosteron. Sel granulosa mendapat asupan testosteron dari sel teka dan akan berubah menjadi estrogen setelah diaromatisasi oleh enzim aromatase yang distimulasi oleh FSH (Ganong 2003).

LH yang disekresi oleh kelenjar hipofisis anterior akan dibawa melalui aliran darah menuju ovarium. Di dalam ovarium LH merangsang sel interstitial untuk mensekresi estrogen yang diperlukan untuk pematangan akhir folikel. Pembentukan estrogen sebanding dengan LH yang tersedia. Gangguan pada proses sekresi dan pengangkutan LH dan FSH dapat mengganggu proses folikulogenesis (Prajogo, 2007). FSH, LH dan estrogen menjadi bagian penting dalam proses fisiologi ovarium. Konsentrasi FSH dalam darah menurun akan mengakibatkan terjadinya atresia dan mengalami apoptosis. Dalam hal ini FSH menjadi faktor survival untuk perkembangan ovarium. Selama atresia, sel-sel oosit dan granulosa menjadi berkomitmen untuk mengekspresikan gen yang menyebabkan apoptosis (Poli, 2010).

Sel-sel granulosa dan sel teka mempunyai banyak reseptor FSH dan LH. LH bekerja melalui cAMP untuk meningkatkan kolesterol menjadi androstenedion. Sebagian androstenedion diubah menjadi estradiol yang masuk ke dalam sirkulasi. Sel teka interna juga memberikan androstenedion pada sel granulosa. Sel granulosa membuat estradiol bila mendapat rangsangan dari

androgen dan disekresikan dalam cairan folikel. Sel granulosa memiliki banyak reseptor FSH untuk meningkatkan sekresi estradiol dari sel granulosa dengan bekerja melalui cAMP untuk meningkatkan aktivitas aromatase. Sel granulosa matang juga memiliki reseptor LH yang kemudian akan merangsang pembentukan estradiol (Ganong 2003).

Asam asiatic merupakan bagian dari triterpenoid yang mengakibatkan apoptosis berlebih dalam sel. Apoptosis yang disebabkan oleh asam asiatic terutama terkait dengan apoptosis sel-sel kanker. Pemberian asam asiatic menyebabkan apoptosis yang diawali dengan kerusakan mitokondria. Hal tersebut mengakibatkan penurunan rasio bcl-2, pelepasan sitokrom C dan aktivasi caspase yang selanjutnya menyebabkan apoptosis sel (Hsu *et al.*, 2004).

Apoptosis memegang peranan penting dalam perkembangan jaringan selama folikologenesis dan embryogenesis. Apoptosis yang terjadi di ovarium merupakan mekanisme fisiologi untuk mengatur jumlah sel-sel dalam epitelium folikel sehingga apoptosis memegang peranan penting pada homeostatis ovarium (Mahriani, 2008). Secara umum apoptosis antara lain dicirikan oleh penyusutan ukuran sel, blebbing pada membran, kondensasi kromatin dan fragmentasi inti. Ada 2 jalur apoptosis, yaitu jalur ekstrinsik melalui reseptor permukaan sel, dan intrinsik melalui mitokondria (Mahriani, 2008).

Pada jalur intrinsik, energi yang dimiliki oleh sel digunakan untuk mengakumulasi Ca^{++} terkumpul di mitokondria. Adanya Ca^{++} tersebut menyebabkan pembentukan oksigen reaktif. Senyawa ini bersama dengan protein Bax, membuka pori-pori membran mitokondria, sehingga mitokondria akan blebbing dan melepas salah satu protein intermembran cytochrome-c ke sitosol,

dengan dikontrol Bel 2. Pelepasan cytochrom C akan mengikat Apaf-1 (Apoptotic protease activation factor-1) dan CARD (Caspase recruitment domain). Oligomer dari Apaf-1 kemudian mengikat procaspase-9 pada sitosol membentuk apoptosom (kompleks aktivasi Caspase-9). Caspase-9 selanjutnya mentrigger maturasi katalitik dari procaspase -3 yang menghentikan cascade Caspase, sehingga menyebabkan apoptosis (Mahriani, 2008).

Apoptosis terdiri atas 3 fase, yaitu aktivasi spesifik sinyal transduksi, gangguan fungsi mitokondria yang menyebabkan dikeluarkan protein intermembran di sitoplasma, dan degenerasi sel (Mahriani, 2008).

Kunci pengaturan apoptosis yang penting adalah protein famili Bcl-2 yang terdiri dari protein anti-apoptosis seperti Bcl-2, Bcl-Xl, Bcl-w dan protein pro-apoptosis seperti Bax, Bak, Bad (Mahriani, 2008). Bcl-2 atau Bcl-w merupakan faktor prosurvival yang penting pada sel-sel folikel serta mempunyai peranserta dalam pengaturan apoptosis melalui pengikatan faktor proapoptosis Bax dan Bak. Ekspresi protein Bax dapat digunakan untuk menetapkan kematian sel granulosa (Mahriani, 2008).

2,5-HD merupakan senyawa yang toksik bagi sel granulosa. Perlakuan 2,5-HD akan menyebabkan terganggunya sel granulosa yang kemudian diikuti oleh penurunan sekresi cairan folikel yang berperan dalam menyediakan nutrien dan hormon untuk mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel germinal. Gangguan pada sel granulosa akan menghambat regenerasi dan pematangan sel-sel germinal, yang mengakibatkan kematian sel germinal melalui mekanisme apoptosis. Mekanisme kematian sel dalam folikulogenesis melalui mekanisme apoptosis mengalami peningkatan selama perlakuan (Mahriani, 2008).

2.6 Tinjauan Antifertilitas

Bahan yang digolongkan sebagai antifertilitas dapat bekerja pada berbagai tempat dalam tubuh yaitu; pada poros hipotalamus-hipofisa anterior, ovarium, tuba falopii, uterus dan pada spermatogenesis (Astika, 1989).

Antifertilitas yang bekerja pada ovarium dapat mempengaruhi proses pembentukan dan perkembangan folikel serta gangguan proses ovulasi. Kerja antifertilitas pada tuba falopii dapat mempengaruhi transportasi sel telur maupun sel spermatozoa, proses fertilisasi dan transportasi zigot. Antifertilisasi yang bekerja pada uterus dapat menghambat proses implantasi, organogenesis dan perkembangan janin (Astika, 1989).

Bahan aktif steroid dan triterpenoid diduga sebagai bahan aktif yang bekerja sebagai faktor antifertilitas. Hal tersebut dikarenakan kedua bahan aktif tersebut diduga mampu mengakibatkan gangguan pada jalur hipotalamus hipofise yang selanjutnya mengakibatkan gangguan sekresi GnRH yang kemudian akan berpengaruh terhadap pembentukan, perkembangan dan pematangan folikel (Limbong, 2007). Aktivitas bahan antigonadotropin dengan mekanisme umpan balik negative mengakibatkan penurunan sekresi GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) pada poros hipotalamus-hipofisa anterior sehingga mengakibatkan penurunan sekresi hormone gonadotropin (FSH dan LH) dari kelenjar hipofisa anterior sehingga mempengaruhi pembentukan, perkembangan, dan pematangan folikel ovarium serta gangguan proses ovulasi (Meles dkk, 1992).