

**PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)
TERHADAP DIAMETER FOLIKEL DAN KETEBALAN LAPISAN SEL
GRANULOSA PADA OVARIUM MENCIT (*Mus musculus* L.)**

(Skripsi)

Oleh

Zsakia Handayani



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS LAMPUNG

2019

ABSTRAK

PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP DIAMETER FOLIKEL DAN KETEBALAN LAPISAN SEL GRANULOSA PADA OVARIUM MENCIT (*Mus musculus* L.)

Oleh

ZSAKIA HANDAYANI

Indonesia merupakan negara berkembang yang memiliki jumlah penduduk yang cukup tinggi. Untuk mengatasi masalah jumlah penduduk yang terus meningkat diperlukan adanya penelitian tentang bahan yang dapat dijadikan sebagai bahan antifertilitas alami. Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan obat alami. Salah satunya dapat dijadikan sebagai bahan antifertilitas. Senyawa yang terkandung pada tanaman sirsak berupa bahan aktif annonain dan acetogenins dari golongan alkaloid, saponin, flavonoid, serta tanin. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun sirsak yang diberikan kepada mencit (*Mus musculus* L.) betina fertil yang berumur 3 bulan terhadap perkembangan diameter folikel ovarium dan ketebalan lapisan sel granulosa.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari empat kelompok perlakuan dengan masing-masing lima pengulangan. Pemberian ekstrak daun sirsak dilakukan selama 14 hari 1 kelompok Kontrol (K) yang diberi 0 mg/ 30 grBB dalam 0,3 ml aquabides, dan 3 kelompok Perlakuan yaitu P1 diberi 9 mg/30 grBB dalam 0,3 ml aquabides, P2 diberi 13,5 mg/ 30 grBB dalam 0,3 ml aquabides dan P3 18 mg/ 30 grBB dalam 0,3 ml aquabides. Data yang diperoleh akan diuji menggunakan One Way ANOVA dan dilanjutkan dengan BNT pada taraf nyata 5%. Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirsak dapat menghambat perkembangan folikel dan ketebalan lapisan sel granulosa. Semakin tinggi dosis perlakuan maka semakin menurun ukuran diameter folikel dan ketebalan lapisan sel granulosa. Hal ini disebabkan karena adanya umpan balik negatif terhadap hormon-hormon gonadotropin yang akan menyebabkan gangguan pada sekresi FSH dan LH sehingga proses folikulogenesis terganggu.

Kata Kunci: folikel, sel granulosa, mencit (*Mus musculus* L.)

**PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.)
TERHADAP DIAMETER FOLIKEL DAN KETEBALAN LAPISAN SEL
GRANULOSA PADA OVARIUM MENCIT (*Mus musculus* L.)**

Oleh

Zsaḱia Handayani

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi : **PENGARUH EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP DIAMETER FOLIKEL DAN KETEBALAN LAPISAN SEL GRANULOSA PADA OVARIUM MENCIT (*Mus musculus* L.)**

Nama Mahasiswa : **Zsakia Handayani**

NPM : 1517021037

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing

Pembimbing 1

Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 196603051991032001

Pembimbing 2

Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed.
NIP 195704241987031001

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA

Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP 19610112 199103 1 002

MENGESAHKAN

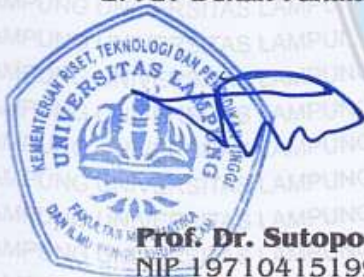
1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Nuning Nurcahyani M.Sc.

Sekretaris : Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed.

**Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Hendri Busman, M. Biomed.**

2. PLT Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Prof. Dr. Sutopo Hadi S.Si., M.Sc.
NIP. 197104151995121001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 27 Februari 2019

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zsakia Handayani
NPM : 1517021037
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya berjudul:

“Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Diameter Folikel dan Ketebalan Lapisan Sel Granulosa Pada Ovarium Mencit (*Mus musculus* L.)”

baik gagasan, data, maupun pembahasannya adalah **benar** karya saya sendiri yang saya susun dengan mengikuti norma dan etika akademik yang berlaku dan saya memastikan bahwa tingkat similaritas skripsi ini tidak lebih dari 20%.

Jika di kemudian hari terbukti pernyataan saya ini tidak benar, saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 27 Februari 2019

Yang menyatakan,



(Zsakia Handayani)

NPM. 1517021037

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Natar, Lampung Selatan pada tanggal 16 April 1997. Penulis merupakan putri bungsu dari pasangan Bapak Ahwan Sakban dan Ibu Lismarni.

Penulis menyelesaikan pendidikan pertamanya di Taman Kanak-Kanak Dharma Wanita Bandar Lampung pada tahun 2003, pendidikan dasar di Sekolah Dasar Negeri (SDN) 2 Rajabasa Bandar Lampung pada tahun 2009, pendidikan menengah pertama di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 22 Bandar Lampung pada tahun 2012, pendidikan menengah atas di Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 7 Bandar Lampung pada tahun 2015. Pada tahun yang sama penulis diterima di Perguruan Tinggi Negeri (PTN) Universitas Lampung (UNILA) pada Program Studi Biologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Unila aktif di Organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Unila sebagai anggota Bidang Kaderisasi dan kepemimpinan pada tahun 2016-2017.

Penulis melaksanakan Kerja Praktik di Balai Pengkajian Teknologi Pangan (BPTP) Bandar Lampung pada bulan Januari-Februari 2018 dengan judul “Pengaruh Pemberian Dosis Pupuk NPK Terhadap Pertumbuhan Cabai (*Capsicum Annum L.*) Di Taman Sains Pertanian (TSP) Natar ” dan melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Toto Projo, Kecamatan Way Bungur, Kabupaten Lampung Timur pada Juli-Agustus 2018.

PERSEMBAHAN

لِلَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillahirobbil'alamin

Segala puji bagi Allah atas rahmat dan hidayahNya, atas karunia dan kemudahan yang Engkau berikan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Kupersembahkan Tulisanku Untuk Papa, Mama Tercinta yang telah mencurahkan kasih sayang serta senantiasa mendoakan ku selama ini. Terimakasih untuk segala upaya yang telah Papa dan Mama berikan hingga mampu menghantarkan ku hingga ke jenjang ini. Teruntuk para kakak-kakakku, para sahabat dan Pendidik yang ku sayangi serta adik-adik yang selalu memberi semangat serta dukungannya kepadaku, serta Almamaterku Tercinta, Universitas Lampung

MOTTO

Man Jadda Wa Jadda

“Barang siapa yang bersungguh-sungguh akan mendapatkannya”

“Pantaskan diri untuk mengejar impianmu. Dan mungkin, impian itu
yang akan berbalik mengejarmu”

-Merry Riana-

“Nyatakan perasaan, hentikan penyesalan, maafkan kesalahan,
tertawakan kenangan, kejar impian. Hidup terlalu singkat untuk
dipakai meratap”

-Fiersa Besari-

SANWACANA

Puji syukur Penulis ucapkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Diameter Folikel dan Ketebalan Lapisan Sel Granulosa Pada Ovarium Mencit (*Mus musculus* L.)”** yang dilaksanakan pada bulan Oktober hingga November 2018.

Penulisan skripsi ini berkat bimbingan dan dukungan berbagai pihak baik moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan ucapan terimakasih kepada :

1. Kedua orangtuaku, Bapak Ahwan S dan Ibu Lismarni, yang telah mendidik dengan sabar dan penuh kasih sayang, serta memberikan perhatian, dukungan, semangat, pengorbanan, dan doa yang tiada hentinya kepada penulis.
2. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani M.Sc. selaku pembimbing utama yang telah sabar membimbing serta memberi arahan dan saran dalam penelitian hingga dapat terselesaikan skripsi ini.
3. Bapak Prof. Dr. Sutyarso, M. Biomed., selaku pembimbing kedua yang telah memberikan arahan dan saran kepada penulis selama pelaksanaan penelitian hingga dapat terselesaikan skripsi ini.
4. Bapak Dr. Hendri Busman, M. Biomed., selaku pembahas yang dengan teliti dan sabar memberi masukan serta memotivasi penulis dalam penelitian hingga terselesaikan penelitian ini.
5. Bapak Priyambodo, M.Sc., selaku Pembimbing Akademik yang selalu membimbing dan memberi masukan terkait dengan perkuliahan.

6. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
7. Kepala Laboratorium Zoologi dan Botani, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung beserta seluruh staf teknis atas bantuannya selama penulis melaksanakan penelitian.
8. Bapak dan Ibu dosen yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu, terimakasih atas ilmu yang telah diberikan kepada penulis selama melaksanakan studi di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
9. Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si, M.Sc. selaku PLT Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
10. Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M.P. selaku Rektor Universitas Lampung.
11. Para kakakku Ricco Wahyudi, Nia Nuri Oktaviana, Muhammad Rizki yang selalu mendukung dan memberikan do'a dalam setiap perjalanan hidup penulis.
12. Rekan seperjuangan penelitian Maya Anisa Nevanka dan Ocha Fitria, terima kasih banyak atas kerja sama yang baik selama proses penelitian. Penelitian yang rumit terasa lebih indah dijalankan bersama-sama.
13. Sahabatku Sepvira, Nina, Celly, Rizki, Putri, Imelta, Cahaya, Nurisa, Ica, Luvita. Terima kasih atas dukungan dan doa yang telah diberikan selama ini.
14. Para sahabatku yang menemaniku dan memberikan keceriaan selama dikampus Marizha Putri, Dea Primandari, Gita Puspita N, Risky Amellia M, Olla Apriani I, Noviani, Trisna Ramadhanty, Azizah, Dona Steven, Danang Pratama, Tommi M, Rengga A, Resti S, Resti A, Fathia A, Kurniawan, Gusti. Terimakasih Atas dorongan, dukungan dan semangat selama kuliah.
15. Teman-teman seangkatan Biologi 2015, terimakasih atas semangat serta kekeluargaannya yang telah terjalin selama ini.
16. Kak Oksa dan kak Mizan, kakak tingkat yang selalu membantu memberikan semangat, dukungan dan saran kepada penulis.
17. Para adik tingkat angkatan 2016, 2017 dan 2018, yang selalu memberi semangat dan dukungan untuk penulis.

18. Serta semua pihak yang telah membantu, mempermudah dan mendoakan penulis dalam melaksanakan penelitian ini.

Akhir kata, Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan ini dan jauh dari kesempurnaan, akan tetapi sedikit harapan semoga tulisan yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, 27 Februari 2019

Penulis,

Zsafia Handayani

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
HALAMAN JUDUL DALAM	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	vi
SURAT PERNYATAAN	v
RIWAYAT HIDUP	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	viii
MOTTO	ix
SANWACANA	x
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xviii

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	4
D. Kerangka Pikir	4
E. Hipotesis	5

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sirsak.....	6
1. Deskripsi dan Klasifikasi Sirsak (<i>Annona muricata</i>).....	6
2. Kandungan Kimia Daun Sirsak (<i>Annona muricata L.</i>).....	8
B. Mencit (<i>Mus musculus L.</i>)	9
C. Ovarium.....	10
D. Perkembangan Folikel Ovarium.....	11
1. Folikel Primer.....	11
2. Folikel Sekunder.....	13
3. Folikel Tersier.....	14
4. Folikel de Graff.....	15
E. Hormon-hormon Reproduksi.....	16
1. FSH dan LH.....	17
2. Estrogen.....	17
3. Progesteron.....	18
4. GnRH.....	19

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	20
B. Alat dan Bahan.....	20
1. Alat.....	20
2. Bahan.....	21
C. Prosedur Penelitian.	21
1. Kandang Hewan Uji.....	21
2. Hewan Uji.....	21
3. Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak (<i>Annona muricata L.</i>).....	22
4. Pemberian Perlakuan.....	22
5. Proses Pembedahan Mencit.....	23
D. Pengamatan dan Pengukuran Diameter Folikel.	24
1. Histologi Ovarium.....	24
2. Teknik Pembuatan Slide.....	24
a. Trimming.....	24
b. Dehidrasi.....	25
c. Embedding.....	25
d. Cutting.....	25
e. Staining.....	26
f. Mounting.....	26
g. Pembacaan Slide.....	26
3. Pengukuran Diameter Folikel.....	26
4. Parameter yang Diamati.....	26
E. Rancangan Penelitian dan Analisis Data.....	27
F. Diagram Alir.....	28

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian.....	29
--------------------------	----

1. Folikel Primer.....	29
2. Folikel Sekunder.....	31
3. Folikel Tersier.....	33
B. Pembahasan.....	35

V. KESIMPULAN

A. Kesimpulan.....	44
B. Saran.....	44

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata-rata Diameter Folikel Primer.....	29
2. Rata-rata Ketebalan Kapisan Sel Granulosa Pada Folikel Primer.....	29
3. Rata-rata Diameter Folikel Sekunder.....	31
4. Rata-rata Ketebalan Lapisan Sel Granulosa Pada Folikel Primer.....	31
5. Rata-rata Diameter Folikel Tersier.....	33
6. Rata-rata Ketebalan Lapisan Sel Granulosa Pada Folikel Tersier.....	33
7. Hasil Analisis Uji Statistik One Way ANOVA pengaruh ekstrak daun sirsak terhadap diameter folikel primer pada ovarium mencit.....	50
8. Hasil Analisis Uji Statistik One Way ANOVA pengaruh ekstrak daun sirsak terhadap ketebalan lapisan sel granulosa folikel primer pada ovarium mencit.....	52
9. Hasil Analisis Uji Statistik One Way ANOVA pengaruh ekstrak daun sirsak terhadap diameter folikel sekunder pada ovarium mencit.....	55
10. Hasil Analisis Uji Statistik One Way ANOVA pengaruh ekstrak daun sirsak terhadap ketebalan lapisan sel granulosa folikel	

sekunder pada ovarium mencit.....	57
11. Hasil Analisis Uji Statistik One Way ANOVA pengaruh ekstrak daun sirsak terhadap diameter folikel tersier pada ovarium mencit.....	59
12. Hasil Analisis Uji Statistik One Way ANOVA pengaruh ekstrak daun sirsak terhadap ketebalan lapisan sel granulosa folikel sekunder pada ovarium mencit.....	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.).....	7
2. Morfologi Mencit (<i>Mus musculus</i> L.).....	9
3. Folikel Primer Ovarium Mamalia.....	12
4. Folikel Sekunder Ovarium Mamalia.....	13
5. Folikel Tersier Ovarium Mamalia.....	14
6. Folikel deGraff Ovarium Mamalia.....	16
7. Rancangan Percobaan.....	27
8. Diagram Alir.....	28
9. Gambaran Histologi Ovarium Mencit Setelah Pemberian Ekstrak.....	35
10. Alat-alat yang Digunakan Dalam Penelitian.....	65
11. Proses Pembuatan Ekstrak.....	66
12. Proses PENCEKOKAN Mencit.....	67
13. Proses Pembedahan Mencit.....	67

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara berkembang yang memiliki jumlah penduduk yang cukup tinggi. Peningkatan jumlah penduduk di Indonesia menjadi suatu permasalahan yang dihadapi pemerintah yang sampai saat ini belum dapat diatasi. Masalah peningkatan jumlah penduduk berkaitan dengan berbagai bidang seperti mempersulit pemerataan kesejahteraan masyarakat di bidang pangan, papan, sandang dan kesehatan. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik Indonesia (BPS), pada tahun 2010 jumlah penduduk Indonesia mencapai 237.641.326 jiwa. Untuk mengatasi masalah kependudukan upaya yang dilakukan pemerintah adalah membuat program Keluarga Berencana (KB) yang telah dilaksanakan sejak tahun 1970 yang memiliki tujuan untuk membentuk keluarga kecil bahagia dan sejahtera.

Namun, pemakaian alat kontrasepsi yang beredar dalam masyarakat seperti spiral, kondom, pil KB, suntikan depeprovera, susuk KB, diafragma dan spon vagina merupakan kontrasepsi sintesis yang memiliki resiko atau efek samping terhadap pemakainya (Abdullah dkk, 2013). Efek samping dari kontrasepsi sintesis yang biasa dipakai dalam masyarakat akan menimbulkan kegemukan, alergi, menstruasi tidak teratur, dan pendarahan diluar siklus menstruasi (Ilyas,

2004). Menurut Purnamasari (2009), kontrasepsi sintesis dapat mempermudah metabolisme karbohidrat menjadi lemak sehingga dapat mengakibatkan pengguna alat kontrasepsi ini mengalami kegemukan. Efek samping yang paling berbahaya dari penggunaan alat kontrasepsi sintesis dapat menyebabkan kanker serviks (Aziz, 1997). Dari berbagai efek samping yang dapat ditimbulkan dari penggunaan alat kontrasepsi sintesis masyarakat banyak yang beralih menggunakan kontrasepsi tradisional yang memanfaatkan senyawa metabolit sekunder dari tanaman. Tanaman tersebut mengandung senyawa yang bersifat antifertilitas, antiestrogenik, dan antiimplantasi baik terhadap pria maupun wanita yang lebih aman digunakan dibandingkan kontrasepsi sintesis.

Sejak dahulu, Indonesia memiliki kekayaan jenis tanaman yang dapat dijadikan sebagai obat-obatan alami. Salah satu pemanfaatan tanaman sebagai obat adalah sebagai bahan antifertilisasi. Tumbuhan yang dapat dijadikan bahan antifertilisasi adalah tumbuhan yang memiliki senyawa-senyawa kimia yang terkandung di dalamnya seperti senyawa dari golongan steroid, alkaloid, triterpenoid atau xanton. Tanaman yang berpotensi sebagai bahan antifertilitas adalah tanaman yang bersifat estrogenik, androgenik, sitotoksik (Fransworth, 1982).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan bahwa beberapa tanaman seperti tanaman sirsak dapat dijadikan sebagai salah satu bahan antifertilisasi.

Menurut (Wirasiti dkk, 2012) ekstrak daun sirsak bersifat antifertilitas yang berpotensi sebagai bahan kontrasepsi alami yang diuji cobakan pada mencit jantan dapat menyebabkan terjadinya penurunan motilitas dan viabilitas

spermatozoa pada mencit . Beberapa senyawa yang terkandung pada tanaman sirsak berupa bahan aktif annonain, dan acetogenins dari golongan alkaloid, saponin, flavonoid, serta tanin (Kardinan, 2004). Flavonoid merupakan salah satu golongan dari isoflavon (Suwirta, 2011). Isoflavon merupakan senyawa yang bersifat estrogenik karena senyawa ini dapat memicu pembentukan estrogen serta mempunyai struktur dasar yang sama dengan hormon estrogen. Estrogen mengakibatkan degenerasi epitel tubulus seminiferus melalui penekanan terhadap fungsi hipofisis untuk menghasilkan gonadotropin sehingga terjadi penurunan testosteron dan terhambatnya spermatogenesis (Cambie and Brewis, 1995). Apabila ekstrak daun sirsak berpengaruh terhadap sistem mencit jantan maka diduga ada pengaruh daun sirsak terhadap sistem reproduksi mencit betina karena biasanya penerapan suatu bahan antifertilitas dilakukan pada sistem reproduksi betina.

Dilihat dari segi antifertilitas, senyawa aktif seperti triterpenoid saponin dapat memperbaiki sel-sel granulosa yang mampu menghambat sekresi hormon gonadotropin yang menyebabkan folikel tidak dapat berkembang. Sel-sel granulosa pada folikel ovarium mengsekresikan suatu inhibidin yang berperan sebagai penghambat sintesis dan sekresi gonadotropin khususnya Follicle Stimulating Hormone (FSH). Akibatnya perkembangan folikel akan terhambat dan ovum tidak dapat dibentuk (Winda,2006).

B. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap diameter folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier pada ovarium mencit (*Mus musculus* L.).
2. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap ketebalan lapisan sel granulosa pada masing-masing folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier pada ovarium mencit (*Mus musculus* L.)

C. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan suatu informasi tentang manfaat dari ekstrak daun sirsak yang berpotensi sebagai bahan antifertilitas alami.

D. Kerangka Pikir

Indonesia merupakan negara yang memiliki berbagai jenis tanaman yang cukup melimpah, sehingga masyarakatnya masih sering memanfaatkan tanaman-tanaman tertentu untuk dijadikan sebagai bahan obat-obatan tradisional. Penggunaan tanaman sebagai obat-obatan alami dinilai cukup ekonomis dan lebih aman bila dibandingkan dengan penggunaan obat-obatan kimia yang dapat menimbulkan efek samping yang berbahaya bagi penggunanya. Salah satu pemanfaatan tanaman sebagai obat adalah sebagai bahan antifertilitas alami. Tanaman yang dapat dijadikan bahan antifertilisasi mengandung beberapa senyawa seperti flavonoid, triterpenoid, saponin, minyak esensial, fitosterol, dan sejumlah senyawa aktif lainnya yang salah satu

diantaranya bersifat antiestrogen dan antiimplantasi yang menghambat siklus reproduksi pada wanita.

Tanaman yang dapat dijadikan bahan antifertilitas alami salah satunya adalah tanaman sirsak (*Annona muricata* L.). Dari penelitian sebelumnya, telah dibuktikan bahwa ekstrak daun sirsak yang mengandung senyawa antifertilitas dapat menyebabkan terjadinya penurunan jumlah sel-sel spermatogonia yang diujicobakan pada mencit jantan dan ekstrak daun sirsak dapat dijadikan bahan kontrasepsi alami bagi laki-laki. Sehingga dari penelitian tersebut, ada kemungkinan bahwa ekstrak daun sirsak juga dapat dijadikan bahan antifertilitas alami bagi wanita.

E. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat menghambat diameter folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier pada ovarium mencit (*Mus musculus* L.).
2. Ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat mengurangi ketebalan lapisan sel-sel granulosa yang mengelilingi folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier ovarium mencit (*Mus musculus* L.).

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sirsak (*Annona muricata*)

1. Deskripsi dan Klasifikasi Sirsak (*Annona muricata*)

Sirsak (*Annona muricata* L.) termasuk dalam familia annonaceae, yang banyak ditemukan di berbagai daerah di Indonesia. Tanaman sirsak merupakan tanaman tahunan yang dapat tumbuh dengan baik di berbagai daerah di Indonesia. Di beberapa daerah di Indonesia, tanaman sirsak memiliki sebutan yang berbeda-beda, salah satunya di Lampung dikenal dengan sebutan *jambu landa* (Adjie, 2011).

Daun sirsak berwarna hijau muda sampai hijau tua, memiliki panjang daun sekitar 6-18 cm dan lebar 3-7 cm, daunnya memiliki bentuk bulat dan panjang, ujung daun sirsak meruncing, memiliki permukaan daun yang mengkilap. Pada tanaman sirsak dalam satu bunga terdapat banyak putik sehingga disebut juga dengan bunga berpistil majemuk. Bunganya tersusun secara hemisiklis. Memiliki mahkota bunga yang berjumlah 6 sepalum yang terdiri dari 2 lingkaran, bentuknya hampir segi tiga, tebal dan kaku, memiliki warna kuning keputih-putihan. Setelah tua dan mekar,

mahkota bunga akan terlepas dari dasar bunga. Bunga keluar dari ketiak daun, cabang, ranting, atau pohon dengan bentuk yang umumnya sempurna (Sunarjono,2005).

Menurut (Sunarjono, 2005), sirsak termasuk tanaman tahunan yang diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Polycarpiceae
Familia : Annonaceae
Genus : *Annona*
Spesies : *Annona muricata* L.



Gambar 1. Daun sirsak (*Annona muricata* L.) (Sunarjono, 2005).

2. Kandungan Kimia Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Senyawa aktif yang terkandung dalam daun sirsak adalah annonain, dan acetogenins dari golongan alkaloid, saponin, flavonoid, serta tanin (Kardinan, 2004). Flavonoid termasuk dalam golongan isoflavon (Suwirta, 2011). Menurut (Cambie and Brewis, 1995), Isoflavon merupakan senyawa estragonik yang mampu merangsang pembentukan estrogen serta memiliki struktur dasar seperti hormon estrogen. Estrogen dapat mengakibatkan degenerasi epitel tubulus seminiferus melalui penekanan terhadap fungsi hipofisis untuk menghasilkan gonadotropin sehingga terjadi penurunan testosteron dan terhambatnya spermatogenesis. Acetogenins yang terkandung pada tanaman sirsak diyakini dapat dijadikan sebagai obat karena senyawa ini bersifat sitotoksik. Salah satunya, tanaman sirsak dijadikan sebagai bahan anti kanker, karena acetogenins akan menghambat transportasi ATP sebagai sumber energi di mitokondria, sehingga senyawa ini dapat membantu menghancurkan sel kanker (Zuhud, 2011). Berdasarkan kandungan kimia yang dimiliki, sirsak dapat digolongkan sebagai bahan antifertilitas.

Berdasarkan hasil penelitian ekstrak daun sirsak yang diujicobakan terhadap mencit jantan dapat menyebabkan terjadinya penurunan jumlah sel-sel spermatogenik dalam tubulus mencit jantan. Seiring dengan bertambahnya dosis ekstrak daun sirsak maka jumlah sel-sel spermatogonia juga lebih rendah (Wirasiti dkk, 2012). Penurunan spermatogonia kemungkinan disebabkan oleh suplai zat makanan melalui

sistem vaskular testis dalam keadaan yang terganggu. Kemungkinan yang lain karena adanya gangguan yang terjadi pada FSH. Di tahap awal perkembangan sel-sel spermatogonia saat mitosis dan proliferasi sel spermatogonia, FSH mempunyai peranan yang sangat penting. Sehingga apabila FSH terganggu, pembentuk sel spermatogonia dapat terhambat (Johnson & Everitt, 1990).

B. Mencit (*Mus musculus* L.)

Menurut Priambodo (2003), mencit (*Mus musculus* L.) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Class : Mamalia
Ordo : Rodentia
Familia : Muridae
Genus : *Mus*
Spesies : *Mus musculus* L.



Gambar 2. Mencit (*Mus musculus* L.) (Priambodo, 2003).

Mencit (*Mus musculus*) termasuk hewan mamalia, hidup secara nokturnal dan bersifat omnivorus, hewan ini dapat hidup di suhu ruangan sekitar 20 - 25 °C dengan kelembaban 45 – 55% (Yuwono, dkk., 2002).

Mencit laboratorium yang digunakan sebagai hewan uji merupakan hasil domestikasi dari mencit liar. Mencit memiliki ciri umum, rambut berwarna putih, memiliki mata yang berwarna merah, berat badan yang dimiliki mencit dapat mencapai 40 gram (Lidiati, 2007). Mencit mampu bertahan hidup selama 1 - 2 tahun, mencit siap dikawinkan pada umur 8 minggu dengan lama kebuntingan 19 - 21 hari. Mencit betina siap dikawinkan bila mengalami fase estrus. Siklus estrus mencit 4 - 5 hari, satu ekor induk mencit dapat menghasilkan 6 – 15 ekor anak (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998).

C. Ovarium

Ovarium merupakan organ penting dalam sistem reproduksi. Ovarium pada mamalia terdiri dari sepasang yang terletak di dekat ginjal kiri dan kanan (Partodihardjo, 1992). Pada ovarium terdapat dua bagian yaitu korteks dan medulla. Bagian medulla mengandung jalinan vaskular didalam jaringan ikat seluler longgar, sedangkan bagian korteks sebagai tempat folikel ovarium yang mengandung oosit (Junquiera, dkk., 1998).

Ovarium memiliki ukuran yang berbeda-beda, tergantung pada struktur yang terkandung didalam ovarium seperti korpus luteum atau folikel. Besar atau kecilnya ovarium tergantung pada umur dan masa reproduksi betina. Pada

hewan betina yang sering kali beranak, ukuran ovarium yang dimiliki dua kali lebih besar bila dibandingkan dengan ovarium yang masih remaja.

Menurut Partodihardjo (1992), setiap jenis hewan memiliki bentuk ovarium yang berbeda-beda. Berdasarkan jumlah keturunan yang dilahirkan, bentuk ovarium dibagi menjadi dua, yaitu :

a. Monotocous : merupakan ovarium dengan bentuk bulat panjang atau oval.

Ovarium ini dimiliki oleh hewan yang melahirkan satu anak dalam 1 kali kelahiran. Contoh : sapi dan kerbau.

b. Polytocous : merupakan ovarium dengan bentuk seperti buah murbei dan dimiliki oleh hewan yang melahirkan anak dengan jumlah yang banyak dalam satukali kelahiran. Contoh : tikus dan babi.

D. Perkembangan Folikel Ovarium

Perkembangan folikel di dalam ovarium dikenal dengan folikulogenesis.

Folikel mengalami berbagai tahap perkembangan sehingga mencapai kematangan melalui tahapan perkembangan folikel-folikel primer, sekunder, tersier, dan de Graaf (folikel matang).

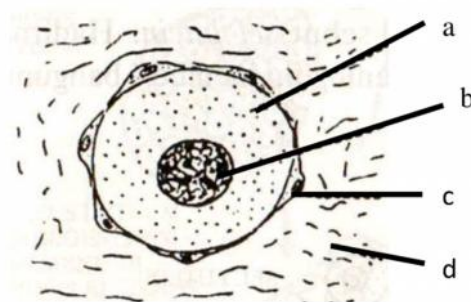
1. Folikel Primer

Pada tahap ini proses folikulogenesis dimulai, yang diawali dengan folikel primordial berkembang menjadi folikel primer dan oosit mulai tumbuh.

Pertumbuhan oosit berkorelasi dengan jumlah sel granulosa yang mengelilinginya. Folikel primer ditandai dengan perubahan diameter oosit yang membesar dua kali atau tiga kali lipat. Pertumbuhan oosit diikuti

dengan perubahan sel granulosa dari bentuk pipih menjadi kuboid (Braw-Tal, 2002). Sel granulosa terletak diatas membran basalis yang memisahkannya dengan sel stroma yang terdapat disekelilingnya dan membentuk teka folikuli. Pada sel granulosa terjadi pembentukan reseptor FSH (Aerts dan Bols, 2010).

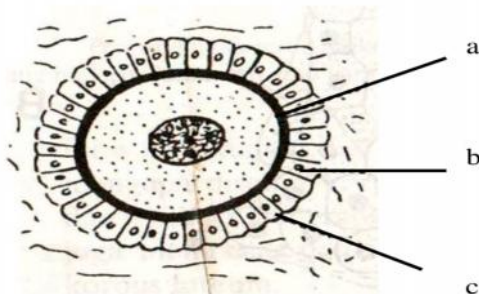
Folikel primer terdiri dari 'bakat sel telur' dan selapis sel folikuler kecil. Folikel-folikel ini berkumpul di bawah tunica albuginea (Toelihere, 1997). Terdapat pigmen lipokrom yang berada dalam ooplasma, butir lemak dan ribosom bebas pada folikel primer. Sel granulosa akan membentuk filopodia, tonjolan-tonjolan halus yang panjang ke arah oosit. Sel granulosa akan membentuk zona pelusida yang berada di sebelah luar oosit, selaput oosit yang terdiri dari bahan amorf dan tidak mengandung sel sama sekali. Oosit primer menempuh meiosis 1 sampai tahap leptoten profase (Yatim, 1994).



Gambar 3. Folikel Primer Ovarium Mamalia (Singh, 1991).
a) oosit; b) inti; c) sel folikel; d) stroma.

2. Folikel sekunder

Setelah folikel primer kemudian akan berkembang ke tahap selanjutnya yaitu folikel sekunder. Namun hanya sebagian dari folikel primer yang menjadi folikel sekunder (Anantasika, 2007). Folikel sekunder memiliki ukuran yang lebih besar bila dibandingkan dengan folikel primer karena jumlah sel-sel granulosa pada folikel sekunder lebih banyak (Partodiharjo, 1982). Folikel sekunder ditandai dengan oosit yang terus tumbuh sehingga mencapai besar yang maksimal. Pembelahan meiosis 1 sampai pada diploten profase serta lapisan sel granulosa terdiri dari 6-12 lapis sel (Yatim, 1994). Sel granulosa berfungsi mengaktifkan dan meningkatkan jumlah reseptor FSH, androgen dan estrogen.



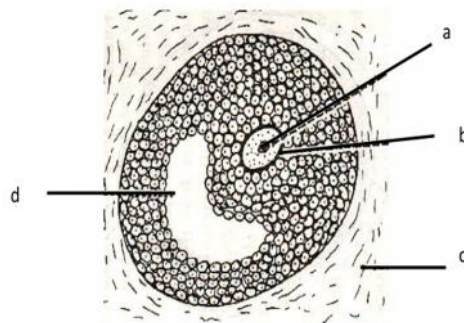
Gambar 4. Folikel sekunder Ovarium Mamalia (Singh,1991).
a) zona pelucida ; b) sel folikel menjadi silindris;
c) membran basal.

Pada tahap ini terjadi perubahan bentuk sel granulosa dari epitel selapis kuboid menjadi epitel selapis kolumnar, dan terjadinya pembentukan sel teka. Sel teka ini memproduksi androgen sebagai substrat untuk menghasilkan estrogen. Sel teka intema terbentuk dari satu lapisan sel-sel teka folikuli yang berada dalam sel sekretorik sedangkan sel teka eksterna

terbentuk dari satu lapisan luar jaringan ikat yang mengandung sel-sel yang menyerupai fibroblas (Patricia, 2014).

3. Folikel Tersier

Folikel tersier merupakan perkembangan dari folikel primer yang telah tumbuh dewasa. Folikel ini memiliki ukuran yang besar karena jumlah sel-sel granulosanya yang lebih banyak bila dibandingkan dengan folikel sekunder. Folikel ini terletak lebih jauh dari korteks ovarium (Anantasika, 2007). Pada tahap folikel tersier ditandai dengan terbentuk antrum yang berisi cairan folikuler yang merupakan hasil sekresi dari oosit dan sel granulosa (Yatim, 1994).



Gambar 5. Folikel Tersier Ovarium Mamalia (Singh, 1991).

a) oosit; b) zona pelucida; c) stroma; d) rongga atrum

Pertumbuhan folikel tersier sangat cepat dipengaruhi oleh gonadotropin. Sel-sel teka interna dirangsang oleh FSH. Sel-sel teka interna akan berproliferasi serta mensekresi androstenedion sehingga estrogen yang dihasilkan akan semakin banyak. Jumlah estrogen yang semakin banyak akan mengakibatkan mekanisme umpan balik negatif ke hipofisa sehingga

terjadi penghambatan sekresi FSH. FSH berfungsi untuk merangsang munculnya reseptor LH yang cukup di sel-sel granulosa untuk terjadinya luteinisasi (Leung, 2004).

4. Folikel de Graff

Folikel de Graff merupakan perkembangan dari folikel tersier, ukuran dari folikelnya lebih besar bila dibandingkan dengan folikel tersier.

Folikel de Graff merupakan folikel tersier yang telah matang. Folikel ini merupakan folikel yang terbesar dan yang terakhir pada folikel ovarium.

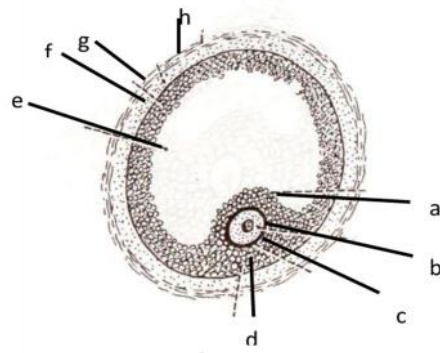
Folikel ini terdapat pada hewan betina yang sedang dalam fase birahi (Senger 2005).

Folikel de Graff terdiri dari lapisan sel granulosa, teka folikuler yaitu teka interna dan teka eksterna lapisan membran dasar dan selapis tenunan pengikat. Pada saat ovulasi terjadi terdapat folikel de Graff yang tidak berhasil pecah, sehingga folikel-folikel ini disebut folikel atresi (Anantasika, 2007).

Folikel ini terbentuk karena adanya peningkatan FSH pada ovarium.

Folikel de Graff berisi cairan folikuler yang mengandung estrogen dan siap untuk berovulasi. Estrogen akan menghambat pengeluaran FSH dan merangsang pengeluaran LH dari hipofisis anterior. LH merupakan hormon yang berperan dalam pemasakan folikel sehingga dapat berkembang secara sempurna (Isnaeni, 2006). Setelah ovulasi, sel-sel

granulosa, jaringan ikat, dan pembuluh darah kecil di ovarium mengalami proliferasi. Sel-sel granulosa akan membesar, dalam sel ini mengandung banyak kapiler dan jaringan ikat yang disebut corpus luteum (Kharisma, 2008).



Gambar 6. Folikel de Graff Ovarium Mamalia (Singh, 1991).

- a.) kumulus ooforus; b) oosit; c) zona pelucida;
 d) duskus proligerus; e) rongga folikel; f) membran granulosa;
 g) teka interna; h) teka eksterna.

E. Hormon-Hormon Reproduksi

Berlangsungnya siklus reproduksi dalam tubuh dikendalikan oleh adanya interaksi hormon. Hormon-hormon reproduksi saling menstimulasi atau menghambat sehingga mencapai suatu keselarasan fungsi dan pengaruh terhadap organ-organ reproduksi. Hormon reproduksi pada hewan betina mempunyai peranan penting dalam inisiasi dan regulasi siklus birahi, ovulasi, fertilisasi, mempersiapkan uterus untuk menerima ovum yang telah dibuahi, melindungi, mengamankan, dan mempertahankan kebuntingan (Toelihere, 1985). Seperti halnya dengan mamalia lain, siklus reproduksi mencit betina terletak pada hipotalamus yang berhubungan dengan kelenjar hipofisis. Hipotalamus mempunyai peran yang penting dalam regulasi hormon yang mengatur reproduksi. Siklus reproduksi berlangsung dengan bantuan hormon

gonadotropin yang merupakan sekresi dari hipotalamus. Hormon gonadotropin terdiri dari hormon FSH dan LH yang berperan dalam pematangan folikel dan ovulasi.

1. FSH (*Folicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*)

FSH (*Folicle Stimulating Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*)

berperan dalam perkembangan folikel pada ovarium. Perkembangan awal folikel diatur oleh FSH sampai folikel matang, tetapi tidak menyebabkan sel telur ovulasi. Folikel tersebut mensintesis dan mensekresi pembentukan estrogen. Perkembangan akhir sel folikel dikendalikan oleh LH, hormon ini merangsang terjadinya proses ovulasi. Saat fase folikel ini bertepatan dengan fase proliferasi pada uterus. Kadar hormon estrogen yang meningkat merangsang endometrium menebal dan memiliki pembuluh darah yang banyak, menyebabkan terjadinya penghambatan sekresi FSH dan merangsang peningkatan sekresi LH selama fase folikel (Sherwood, 2001).

2. Estrogen

Estrogen merupakan salah satu hormon reproduksi hewan betina yang disekresikan oleh sel-sel granulosa penyusun folikel ovarium. Estrogen dibentuk oleh sel-sel granulosa melalui serangkaian konversi melalui reaksi enzimatik. Pembentukan hormon estrogen akan terus meningkat seiring dengan perkembangan folikel di dalam ovarium (Ganong, 2003). Hormon estrogen berasal dari sel teka interna yang mempunyai efek umpan balik positif dan umpan balik negatif. Hormon

estrogen memberikan efek umpan positif bila kadar hormon estrogen rendah maka akan terjadi sintesis FSH dan kadar estrogen meningkat akan menghambat sintesis dari LH sebaliknya hormon estrogen memberikan efek umpan negatif bila hormon estrogen tinggi akan menghambat dan menghentikan sintesis FSH dan merangsang sintesis LH (Campbell,2010).

Estrogen mempunyai fungsi untuk ,manifestasi fisiologik dari uterus, merangsang pertumbuhan lapisan endometrium pada uterus, perubahan secara histologis pada epitelium vagina selama siklus estrus, mengontrol sekresi hormon pituitary (FSH dan LH) dan berpengaruh pada pertumbuhan kelenjar mammae pada mamalia (Suhandoyo, 2009).

3. Progesteron

Progesteron merupakan hormon yang disintesis oleh korpus luteum dan plasenta. Progesteron mempunyai peranan untuk mempertahankan kebuntingan dengan jalan menghambat pergerakan uterus secara spontan serta meniadakan atau menurunkan respon myometrium terhadap oxytocin, menghambat sekresi FSH dan LH sehingga mencegah terjadinya estrus. Progesteron juga berfungsi untuk mempersiapkan endometrium untuk menerima telur dan membantu perkembangan serta berfungsinya kelenjar *mamary* (Jhonqueira, dkk.,1998). Progesteron menampung embrio yang berkembang dengan merangsang kelenjar-kelenjar endometrium agar mengeluarkan dan menyimpan glikogen dalam jumlah besar sehingga

menyebabkan pertumbuhan pembuluh darah endometrium (Sherwood, 2001).

4. Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH)

Hormon ini diproduksi di hipotalamus di otak yang berperan untuk merangsang pelepasan FSH yang memberikan respon positif dari rendahnya kadar estrogen dalam tubuh begitu pula sebaliknya (Campbell *et al*, 2010).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai bulan November 2018 di Laboratorium Zoologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Pembuatan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Pembuatan preparat histologi dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kertas label untuk penanda sampel preparat histologi, seperangkat alat bedah untuk membedah organ reproduksi mencit, mikroskop digunakan untuk mengamati preparat, obyek glass, cover glass, pipet tetes, erlenmeyer, soxhlet, *rotary evaporator*, mikrotom, spluit yang telah ditumpulkan 1 ml, botol minum mencit, kamera untuk dokumentasi dan kandang mencit

terbuat dari kawat berjumlah 20 kandang yang terdiri dari 4 kelompok yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P).

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ekstrak daun sirsak, 20 ekor mencit betina fertil yang berumur 3-4 bulan dengan berat badan 30 - 35 gram, pellet ayam sebagai pakan mencit, sekam padi sebagai alas kandang mencit, kloroform sebagai obat bius, aquabides, buffer formalin 10%, alkohol 70-100%, paraffin, xylol, canada balsam dan zat warna HE (*Hematoxylin Eosin*).

C. Prosedur Penelitian

1. Kandang Hewan Uji

Pada penelitian ini digunakan kandang yang terbuat dari kawat dengan ukuran 30 x 30 cm.

2. Hewan Uji

Pada penelitian ini digunakan mencit (*Mus musculus* L.) betina fertil yang berumur 3 bulan dengan berat badan 30 - 35 gram. Sebelum diberi perlakuan dalam penelitian ini dilakukan aklimatisasi terlebih dahulu terhadap mencit selama 10 hari dalam kondisi laboratorium untuk penyesuaian lingkungan yang baru dan membatasi pengaruh lingkungan dalam percobaan. Setiap hari pukul 08.00 WIB mencit diberi makanan pellet dan air minum.

3. Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Daun sirsak yang telah dikumpulkan dicuci dan dibersihkan terlebih dahulu, kemudian dikeringanginkan sampai kadar air berkurang. Setelah itu daun sirsak dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40 °C selama 24 jam. Daun sirsak yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak untuk mendapatkan serbuk yang halus. Serbuk daun dimaserasi dengan etanol dan disaring kembali menggunakan pompa vacum sehingga didapatkan filtrat. Kemudian filtrat dievaporasi menggunakan *rotatory evaporator* hingga terbentuk ekstrak.

4. Pemberian Perlakuan

Pemberian ekstrak daun sirsak dilakukan dengan cara dicekok (secara oral) menggunakan spuit yang ujungnya ditumpulkan dan diberi pipa karet kecil. Terdapat 4 kelompok perlakuan dengan masing-masing 5 kali pengulangan. Perlakuan pencekokan ini dilakukan satu kali sehari selama 14 hari dengan pemberian dosis yang berbeda-beda untuk setiap kelompok perlakuan. Dosis ekstrak daun sirsak yang digunakan adalah 300 mg/kg BB, 450 mg/kg BB dan 600 mg/kg BB.

Maka, setelah dikonversikan dengan dosis mencit yang memiliki berat 30 gram, dosis yang diberikan setiap pergram berat badan mencit yaitu :

Perlakuan 1

$$= \text{dosis} \times \text{berat badan}$$

$$= 300 \text{ mg} \times 0,03 \text{ kg}$$

$$= 9 \text{ mg/ekor/hari}$$

Perlakuan 2

$$\begin{aligned} &= \text{dosis} \times \text{berat badan} \\ &= 450 \text{ mg} \times 0,03 \text{ kg} \\ &= 13,5 \text{ mg/ekor/hari} \end{aligned}$$

Perlakuan 3

$$\begin{aligned} &= \text{dosis} \times \text{berat badan} \\ &= 600 \text{ mg} \times 0,03 \text{ kg} \\ &= 18 \text{ mg/ekor/hari} \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan di atas, maka kelompok perlakuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Kelompok K (Kontrol) diberi 0,3 ml aquabides
2. Kelompok P1 mencit diberi dosis 9 mg/ekor/hari dalam 0,3 ml aquabides
3. Kelompok P2 mencit diberi dosis 13,5 mg/ekor/hari dalam 0,3 ml aquabides
4. Kelompok mencit diberi dosis 18 mg/ekor/hari dalam 0,3 ml aquabides

5. Proses Pembedahan Mencit

Proses pembedahan mencit dilakukan setelah mencit diberi perlakuan selama 14 hari. Mencit yang dibedah diberi kloroform terlebih dahulu dan diletakkan di bak parafin. Spesimen dibuka perutnya untuk diambil bagian ovariumnya. Ovarium yang telah dipotong difiksasi dengan buffer

formalin 10% di dalam botol. Kemudian dibawa ke Laboratorium Patologi Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung untuk dibuat preparat histologi sehingga folikel mencit betina yang telah diberi perlakuan dapat diamati.

D. Pengamatan dan pengukuran diameter folikel

1. Histologi Ovarium

Pemeriksaan histologi ovarium dilakukan di Laboratorium Patologi, Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Regional III Bandar Lampung. Perkembangan folikel ovarium dievaluasi melalui gambaran histologi dengan cara mengukur diameter folikel menggunakan teknik pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)

2. Teknik Pembuatan Slide

a. Trimming

Trimming adalah suatu proses pemotongan tipis jaringan dengan tebal kurang lebih 4 mm dengan orientasi sesuai organ yang akan dipotong yaitu bagian ovarium. Sebelum proses trimming spesimen yang berupa potongan organ difiksasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan pengawet yang berupa buffer formalin atau 10% formalin. Setelah itu potongan jaringan ovarium tersebut dimasukkan ke dalam *embedding cassette*.

b. Dehidrasi

Proses dehidrasi bertujuan untuk menghilangkan kandungan air dalam jaringan. Dalam proses ini menggunakan alat *tissue processor*.

Proses ini dilakukan secara bertahap dengan menggunakan larutan alkohol (konsentrasi 70-100%). Setelah proses dehidrasi selesai dilanjutkan dengan proses *clearin'* menggunakan larutan xylol dan impregnasi menggunakan larutan paraffin.

c. Embedding

Setelah proses dehidrasi selesai, maka jaringan yang berada dalam *embedding cassette* dipindahkan ke dalam *base mold*, kemudian diisi dengan parafin cair, yang selanjutnya dilekatkan pada balok kayu ukuran 3x3 cm.

d. Cutting

Proses ini dilakukan dalam ruangan dingin. Sebelumnya blok terlebih dahulu didinginkan. Pemotongan diawali dengan pemotongan kasar yang selanjutnya dilakukan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron. Selanjutnya dipilih lembaran potongan yang paling baik, lalu diapungkan di air. Kemudian lembaran jaringan dipindahkan ke dalam *water bath* selama beberapa detik sampai mengembang sempurna. Selanjutnya jaringan ditempatkan pada slide bersih dengan cara menyendok lembaran jaringan tersebut di dalam *water bath*. Setelah itu, slide ditempatkan pada inkubator (suhu 37 °C) selama 24 jam sampai jaringan melekat sempurna.

e. Staining

Setelah jaringan melekat sempurna, selanjutnya dilakukan proses pewarnaan slide dengan menggunakan teknik pewarnaan Hematoksin Eosin (HE).

f. Mounting

Penetasan bahan mounting dilakukan dengan menggunakan canada balsam dan ditutup dengan coverglass, dan dicegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.

g. Pembacaan slide

Proses ini menggunakan mikroskop cahaya. Kemudian mengukur diameter folikel serta ketebalan lapisan sel granulosa.

3. Pengukuran diameter folikel

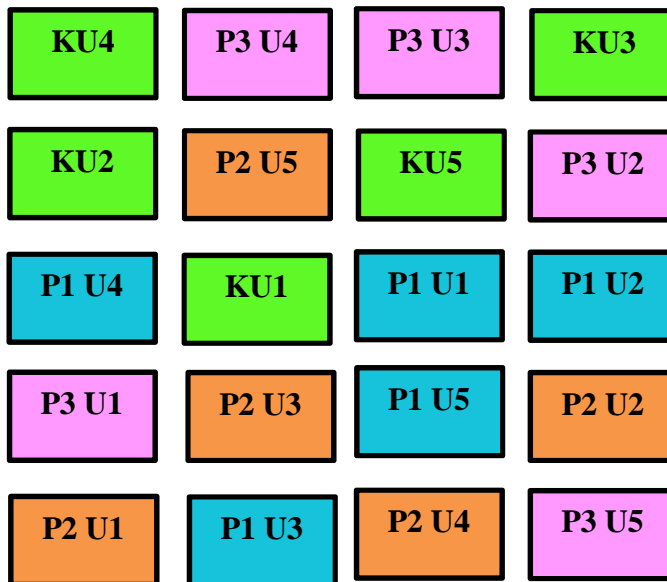
Pengukuran diameter folikel ovarium dilakukan dengan menggunakan mikrometer. Mikrometer dikalibrasi terlebih dahulu kemudian mikrometer dipasang pada lensa okuler. Pengukuran diameter folikel primer dari bagian terluar folikel yaitu batas antara folikel dengan stroma ovarium. Diameter folikel sekunder diukur hingga membran basal yang merupakan bagian terluar dari folikel tersebut, sedangkan untuk diameter folikel tersier diukur hingga bagian terluar dari folikel yaitu teka eksterna.

4. Parameter yang Diamati

Pada penelitian ini parameter yang diamati adalah perkembangan diameter folikel primer, sekunder, tersier dan ketebalan lapisan sel granulosa.

E. Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 kelompok perlakuan dan 5 pengulangan. Dalam penelitian ini menggunakan 20 ekor mencit betina fertil yang dibagi 4 kelompok. Dengan satu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan. Kemudian data dianalisis dengan menggunakan Analisis Ragam One Way Anova. Apabila diperoleh perbedaan yang nyata dilanjutkan dengan uji BNT dengan derajat kepercayaan 5 %. Susunan rancangan percobaan dapat dilihat pada gambar 7:



Gambar 7. Rancangan Percobaan

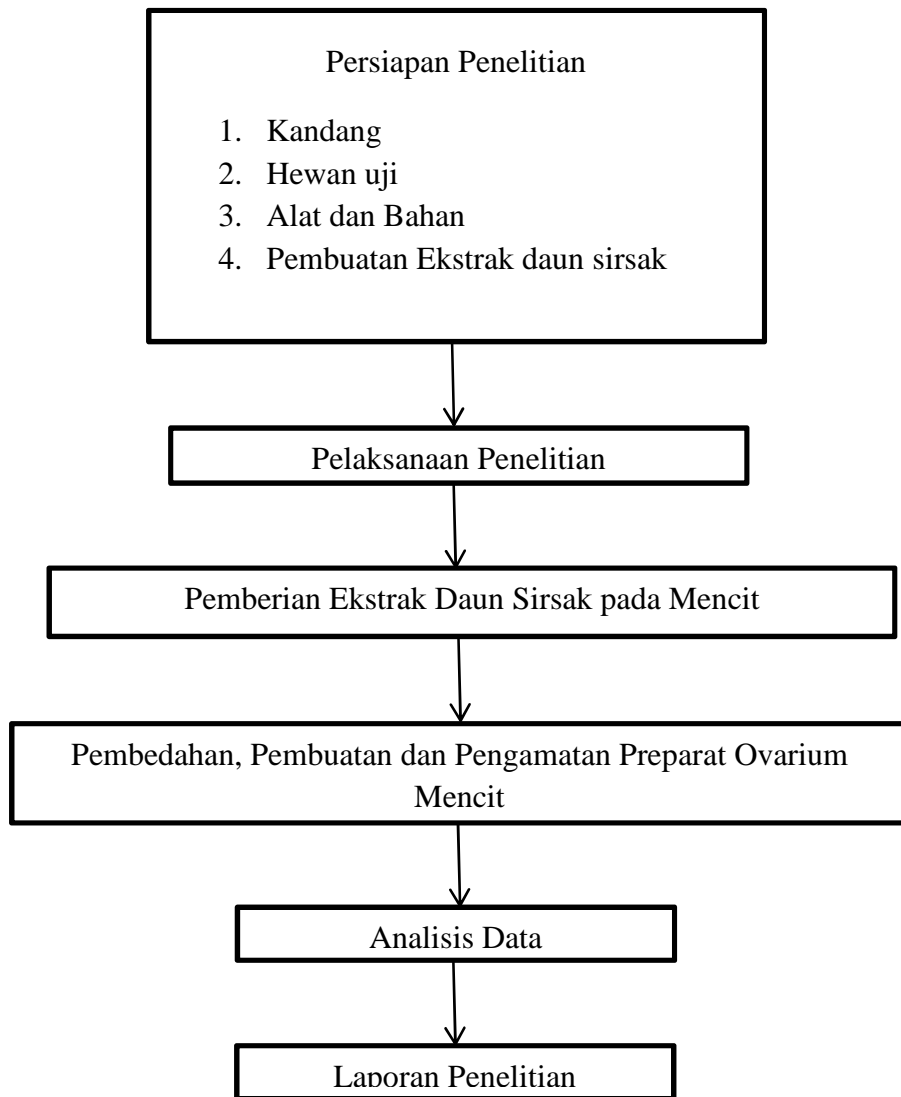
Keterangan:

P = Perlakuan yang digunakan (P1, P2, P3)

K = Kontrol (K)

U = Ulangan (U1, U2, U3, U4, U5)

F. Diagram Alir



Gambar 8. Diagram Alir

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan bahwa pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap mencit (*Mus musculus* L.) :

1. Dapat menghambat perkembangan folikel primer, folikel sekunder, dan folikel tersier ovarium.
2. Dapat mengurangi ketebalan lapisan sel-sel granulosa pada masing-masing folikel primer, folikel sekunder, dan folikel tersier.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai bahan antifertilitas dengan dosis dan lama waktu pemberian yang efektif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah S, Bawotong J, dan Hamel R,. 2013. Hubungan Pemakaian Kontrasepsi Hormonal dan Non Hormonal Dengan Kejadian Kanker Serviks di Ruang D Atas Blu, Prof, Dr, R. D. Kandou. *Jurnal Keperawatan*. Manado: Universitas Sam Ratulangi. 1(1).
- Adjie, S. 2011. *Dahsyatnya Sirsak Tumpas Penyakit*. Pustaka Bunda. Jakarta.
- Aerts, J.M.J., P.E.J. Bols. 2010. Ovarian follicular dynamics: a review with emphasis on the bovine species. Part I: Folliculogenesis and pre-antral follicle development. *Reprod Dom Anim*.
- Agustina, I. 2008. aktivitas folikulogenesis mencit (*Mus musculus* L.) setelah pemberian ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus* L.)[Sriksi]. Jurusan Biologi FMIPA.Unila. Lampung.
- Anantasika, A. 2007. *Fisiologi Folikulogenesis dan Ovulasi*. Disampaikan pada Symposium Pertemuan Ilmiah Tahunan (PIT) III- HIFERI 24-27 Januari 2007. Yogyakarta.
- Aziz, S. 1997. Manajemen Keluarga Berencana. *Jurnal Media Litbangkes*. Jakarta. 3 (7).
- Braw, Tal, R. 2002. The initiation of follicle growth: the oocyte or the somatic cells? *Mol Cell Endocrinol*..
- Busman, H. 2014. Efek Antiestrogenik Ekstrak Rimpang Teki (*Cyperus rotundus* L.) Terhadap Ketebalan Sel Granulosa Lutein dan Teka Lutein Korpus

Luteum Mencit (*Mus musculus* L.). Prosiding Seminar Nasional dan Rapat Tahunan Bidang Ilmu MIPA Universitas Lampung, 9-11 Mei 2014: 239.

- Cambie, R.C., Brewis A.A. 1995. Antifertility Plants of The Pacific. CSIRO Australia. P.6 -12
- Campbell, N.A., J.B. Reece., L.A. Urry., M.L. Cain., S.A. Wasserman., P. V. Minorsky., dan R. B. Jackson. 2010. Biologi Campbell Edisi 8 Jilid III. Erlangga. Jakarta.
- Donnez, J and Dolmans. 2013. *Reproductive Endocrinology and Infertility*. Austin (US): Landes Bioscience.
- Fitriyah, 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegangan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Perkembangan Folikel Ovarium Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi tidak diterbitkan*. UIN Maliki. Malang.
- Fransworth, N.R. 1982. Current States of Plant Product Reported To Inhibit Sperm Research Frontier In Fertility Regulation. *Journal Pharmaceut. Sci* ; 1129-1140
- Ganong, W. F. 2003. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. EGC. Jakarta.
- Guyton, A.C. dan J.E. Hall. 1997. *Buku Ajar Histologi Kedokteran. Edisi ke-9*. Diterjemahkan oleh dr. Irawati Setiawan, dkk. Buku Kedokteran (EGC). Jakarta.
- Hervista, M. 2018. Pengaruh Ekstrak Biji Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Folikulogenesis Pada Ovarium Mencit (*Mus musculus* L.) [*Skripsi*]. Biologi FMIPA UNILA. Bandar Lampung.
- Ilyas S. 2004. *Prospek Luffa aegyptiaca sebagai Bahan Antifertilitas*. Universitas Sumatera Utara Press. Medan.

- Isnaeni, W. 2006. *Fisiologi Hewan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Johnsons, M., Everitt, B. 1990. *Essential Reproduction*. Third edition. Blackwell Sci.Pub. Oxford London. Edinburg.
- Junqueira L.C., J. Carneiro ., and R. O Kelley . 1998. *Histologi Dasar*. Edisi ke-8. Diterjemahkan oleh Dr. Jan Tambayong . Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Kardinan, A., F. R. Kusuma. 2004. *Meniran Penambah Daya Tahan Tubuh Alami*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Kharisma, N.N. 2008. Perubahan Korpus Luteum Mencit (*Mus musculus* L.) Setelah Pemberian Ekstrak Rimapang Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.) [Skripsi]. Biologi FMIPA Unila. Bandarlampung.
- Leung, P.C.K., E.Y. Adashi. 2004. *The Ovary: Dynamics of Primate Follicular Growth: A Physiological Perspective*. second edition. San Diego (US): Elsevier Academic Pr.
- Lidiati. 2007. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Jahe Merah (Zingiber officinale Linn. Var. rubrum) Terhadap Libido Mencit Jantan (Mus musculus)*. [Skripsi]. FMIPA Unila. Bandar Lampung.
- Limbong, T. 2007. *Pengaruh Ekstrak Ethanol Kulit Batang Pakettu (Ficus superba Miq) Terhadap Folikulogenesis Ovarium Mencit (Mus musculus)*. Dalam Abstrak Jurnal Penelitian. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Partodihardjo, S. 1992. *Ilmu Reproduksi Hewan*. Mutiara Sumber Widya. Jakarta.
- Patricia, S.K. 2014. *Pemberian Alpha Liponic Acid Per Oral Menghambat Gangguan Folikulogenesis pada Mencit (Mus musculus) BALB/c Betina yang dipapar Asap Rokok* [Tesis]. Denpasar(ID): Universitas Udayana.

- Priyambodo. 2003. *Pengendalian Hewan Tikus Terpadu*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Purnamasari D. 2009. Hubungan Lama Pemakaian KB Suntik Depo Medroksi Progesteron Asetat (DMPA) dengan Perubahan Berat Badan Di BPS (Bidan Praktek Swasta) “Yossi Trihana” Jogonalan Klaten. *Karya Ilmiah*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian* , 9, 196-202.
- Rinidar dan M. Isa. 2007. Pengaruh Ekstrak Metanol *Hyrocotyle javanica* Thumb Sebagai Kontrasepsi pada Mencit (*Mus musculus* L.) Betina. *Jurnal Kedokteran Hewan*. Vol. 1No. 1
- Rusmiati. 2010. Pengaruh Ekstrak Metanol Kulit Kayu Durian (*Durio zibethinus* Murr) pada Struktur Mikroanatomi Ovarium dan Uterus Mencit (*Mus musculus* L.) Betina. *Sains dan Terapan*, Vol. 4 No. 1
- Senger, P.L. 2005. *Pathways to Pregnancy and Parturition second revised edition*. Washington (US): Current Conception, Inc.
- Sherwood, L., 2001. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Edisi 2. Alih bahasa Brahm U. Pedit; Editor Beatricia I. Santoso. Jakarta:EG
- Singh, I. 1991. *Teks dan Histologi Manusia*. Binarupa aksara. Jakarta. Hal 293.
- Smith, J.B dan Mangkoewodjojo, S. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. UI Press. Jakarta.
- Sunarjono, H. 2005. *Sirsak dan Srikaya*. Swadaya. Bogor.

- Suhandoyo, dan Ciptono. 2009. *Materi E-Learning Reproduksi dan Embriologi Hewan*. Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY. Yogyakarta.
- Suwirta, I.W. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Daun Nimba (*Azadirachta indica* A Juss). Skripsi MIPA Universitas Airlangga.
- Toelihere, M.R. 1985. *Inseminasi Buatan Pada Ternak*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Toelihere, M.R. 1997. *Fisiologi Reproduksi Pada Ternak*. Angkasa. Bandung.
- Winda. 2006. Siklus Hidup Ovarium. <http://ksuheimi.blogspot.com/2007/09/siklus-hidup-ovarium.html>. 16/08/2018.
- Winekler, Anstall JMM, dan Dinacler FM. 1971. Pathology An Introduction Di dalam: Rusmiati dan A Lestrai. Struktur Histologi Organ Hepar dan Ren Mencit (*Mus musculus* L.) Jantan Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Vol. 1 No. 1. Hlm 23-30
- Wirasiti, N.N., A.A.S.A. Sukmaningsih., D. Ariani., 2012. Uji Antifertilitas Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) pada Mencit jantan (*Mus musculus* L). Hasil Penelitian Dosen muda.
- Yatim, W. 1994. *Reproduksi dan Embriologi*. Tarsito. Bandung.
- Yuwono, S.S., E.S. Sulaksono. R.B. Yekti. 2002. *Keadaan Nilai Normal Baku Mencit Strain CBR Swiss Derived di Pusat Penelitian Penyakit Menular*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Zuhud, Ervival A.M. 2011. *Kanker Lenyap Berkat Sirsak*. Agromedia Pustaka. Jakarta.