

UJI EFEK ANTIFERTILITAS FRAKSI N-HEKSAN DAN FRAKSI ETIL ASETAT KULIT BATANG DURIAN (*Durio Zibethinus* Murr) PADA STRUKTUR HISTOLOGI UTERUS MENCIT (*Mus Musculus* L)

Antifertility Test Of N-Hexane and Ethyl Acetate Fraction from Durian (*Durio Zibethinus* Murr) Tree Bark on the Histological Structure of the Uterus of Mice (*Mus Musculus* L)

Rusmiati

Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat
Jalan A. Yani Km 36,00 Banjarbaru Kalimantan Selatan
e-mail:rusmiati_darmawanto@ymail.com

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antifertilitas fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat kulit batang durian pada struktur histologi uterus mencit. Lima belas ekor mencit betina umur 3 bulan dikelompokkan berdasarkan Rancangan Acak Lengkap dengan $n = 5$, perlakuan terdiri dari: kontrol, fraksi n- heksan, dan fraksi etil asetat, dengan konsentrasi 20%. Masing-masing perlakuan diberikan pada mencit sebanyak 1 mL per hari setiap 20 – 30 mg bb selama 14 hari. Satu hari setelah pemberian perlakuan dihentikan diadakan pembedahan pada mencit untuk diambil uterusnya. Parameter yang diamati adalah tebal lapisan miometrium dan endometrium uterus. Sampel dibuat sediaan histologi dengan pewarnaan H-E. Data dianalisis dengan Anava $\alpha = 0,05$ dan dilanjutkan dengan uji DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n heksan dan fraksi etil asetat kulit kayu durian berpengaruh terhadap struktur histologi uterus, karena dapat mengurangi ketebalan lapisan miometrium dan endometrium.

Kata kunci : Kata kunci : n-heksana, etil asetat, kulit batang durian, uterus

ABSTRACT

Study on plants for antifertility drug is very interesting to be done, considering the diversity of flora in South Kalimantan. Moreover, the synthetic contraceptive drugs cause many side effects that cannot be ignored. This research was conducted to determine the antifertility effect of n-hexane and ethyl acetate fraction from durian tree bark on histological structure of the uterus of mice. Fifteen female mice which ages 3 month were grouped by completely randomized design with five replications, treatments consist of control, the fraction of n-hexane, and ethyl acetate, with a concentration of 20%. Each treatment was given to mice with dose one mL per day every 20 to 30 mg of body weight during 14 days. One day after administratiogn, the treatment was stopped, and surgery was performed to collect the uterus. Parameters observed were thick layers of myometrium and endometrium. Histological preparation of uterus was made and stained with H-E. Data were analyzed by ANOVA $\alpha = 0,05$ and followed by DMRT test. The results showed that n-hexane and ethyl acetate fraction from durian tree bark has effect on histological structure of the uterus, because they can reduce the thickness of the myometrium and endometrium.

Keywords: *n-hexane, ethyl acetate, durian tree bark, uterus*

PENDAHULUAN

Pertambahan penduduk di Indonesia setiap tahunnya mencapai 1,49%. Hal ini berarti bahwa setiap tahun jumlah penduduk di Indonesia bertambah sekitar 3 hingga 3,5 juta jiwa. Untuk itu pemerintah ingin menekan laju pertumbuhan penduduk dengan program keluarga berencana (KB). Salah satu cara untuk melaksanakan program (KB) tersebut adalah dengan kontrasepsi (Media Online Indonesia, 2006).

Metode kontrasepsi terbagi dua yaitu modern dan tradisional. Pemilihan metode kontrasepsi modern, terutama yang berhubungan dengan cara hormonal dapat menimbulkan efek samping. Penggunaan kontrasepsi tradisional seperti pantang berkala, senggama terputus, pijat atau urut dan jamu banyak ditemukan di daerah pedesaan yang tradisi masyarakatnya masih memegang teguh kebiasaan nenek moyangnya (Winarno & Dian, 1997).

Salah satu jenis tanaman yang digunakan oleh kaum ibu di Kecamatan Karang Intan, Kabupaten Banjar untuk mencegah kehamilan adalah kulit batang durian. (Hairani, 2006). Kulit kayu durian mengandung tanin, saponin (DePadua, 1978), alkaloid, flavonoid, triterpenoid (Nurliani, 2004). Menurut Winarno dan Dian (1997) golongan senyawa aktif tersebut berkhasiat antifertilitas sehingga dapat dipakai sebagai bahan dasar kontrasepsi.

Saluran reproduksi betina terdiri dari oviduk, tuba fallopi, uterus dan vagina (Turner & Bagnara, 1980). Mekanisme kerja kontrasepsi antara lain menghambat implantasi di uterus. Dari struktur histologi uterus dapat diketahui kesiapan uterus dalam menerima zigot, yaitu dengan melihat tebal lapisan endometrium dan miometrium.

Mukosa pada uterus dipersiapkan secara siklis bagi implantasi dan memainkan suatu peranan penting dalam pembentukan plasenta (Kahle dkk., 2006). Apabila pada uterus tidak terjadi implantasi oleh zigot di membran mukosa (endometrium), maka tidak akan terjadi kehamilan. Miometrium berperan dalam kontraksi uterus, baik pada waktu melahirkan, menstruasi ataupun abortus.

Putri (2007) mendapatkan bahwa ekstrak methanol kulit batang durian konsentrasi 10%, 15%, dan 20% dapat menipiskan miometrium uterus mencit. Oleh karena itu diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan fraksi *n* heksan dan fraksi etil asetat sebagai pelarut. *n*-heksana merupakan pelarut nonpolar, sehingga golongan senyawa nonpolar diharapkan akan larut pada pelarut ini. Etil asetat merupakan pelarut polar menengah sehingga golongan senyawa yang bersifat polar menengah akan larut pada pelarut ini.

BAHAN DAN METODE

Serbuk kering kulit batang durian, mencit betina galur *Balb* berumur 3 bulan, sekam padi, pakan mencit, metanol teknis, *n*-heksana p.a, etil asetat p.a, na-CMC 0,5%, larutan fiksatif Bouin, larutan formalin, alkohol, reagen xylol, paraffin, pewarna hematoksin-eosin, entelan, akuades, dan Mg, HCl, H₂SO₄ pekat, pereaksi Meyer, Wagner, Dragendroff, asam asetat anhidrat, besi (III) klorida 1%.

Setiap 25 g serbuk kulit batang durian diekstraksi dengan 200mL methanol menggunakan *soxhlet* pada suhu 60-70 °C. Methanol diuapkan dengan vacuum *rotary evaporator* pada suhu 40 °C dan dilanjutkan di atas *waterbath* sehingga akhirnya didapatkan ekstrak seperti pasta. Ekstrak tadi kemudian dimasukkan kedalam corong pisah lalu disuspensikan dengan air setelah itu ditambahkan pelarut *n*-heksana. Larutan akan berpisah menjadi 2 fraksi, yaitu fraksi *n*-heksana dan fraksi air. Fraksi *n*-heksana diambil sedangkan fraksi air difraksikan lagi dengan *n*-heksana hingga tiga kali lalu fraksi airnya kemudian diambil dan difraksikan lagi dengan pelarut etil asetat hingga tiga kali. Fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat yang didapat kemudian diuapkan hingga hingga pelarutnya menguap. Tiap fraksi yang didapat kemudian ditimbang sebanyak 20gr lalu dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml dan dimasukkan suspensi NaCMC hingga mencapai batas (100 ml). Selanjutnya fraksi ini dibagi menjadi dua yaitu untuk pengujian efek antifertilitas dan

identifikasi golongan senyawa aktif dalam fraksi.

Rancangan Percobaan

Limabelas ekor mencit betina dikelompokkan berdasarkan rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan terdiri dari kontrol, fraksi *n*-heksan 20%, dan fraksi etil asetat 20% , setiap perlakuan diulang 5 kali.

a. Uji antifertilitas

Cara Perlakuan Pada Hewan Uji

Mencit dipilih dengan mengulas vagina terlebih dahulu untuk mendapatkan mencit dengan fase estrus yang sama. Masing-masing perlakuan diberikan pada mencit peroral setiap hari selama 14 hari pada pagi hari. Setiap mencit diberi 1mL/20-30 g/bb. Pada hari ke 15 dilakukan pembedahan, diambil uterusnya untuk dibuat sediaan histologi menggunakan metode paraffin dan pewarnaan Hematoksin-Eosin.

b. Identifikasi golongan senyawa aktif yang terdapat pada fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat

Identifikasi saponin: dengan uji buih dan reaksi warna penampak noda anisaldehyd asam sulfat.

Identifikasi flavonoid: dengan uap Sb Cl₃

Identifikasi alkaloid : dengan pereaksi Dragendorf

d. Identifikasi steroid : dengan pereaksi warna Liebermann Burchard (Harborne, 1987)

Analisa Data

Sediaan histologi uterus diamati di bawah mikroskop perbesaran 30 kali (etil asetat), 60 kali (kontrol dan *n*-heksan). Parameter yang diamati adalah ketebalan lapisan endometrium dan miometrium. Data dianalisis dengan ANOVA $\alpha = 0,05$ untuk

mengetahui adanya perbedaan nyata, dan dilanjutkan dengan uji DMRT untuk melihat adanya perbedaan diantara perlakuan (Meddish, 1975).

Hasil dan Pembahasan

a. Uji antifertilitas

Dari hasil uji antifertilitas didapatkan data secara kuantitatif yang disajikan dalam bentuk mean dan standar deviasi (Tabel 1).

Tabel 1. Rerata dan standar deviasi ketebalan endometrium dan miometrium

Perlakuan	Rerata ketebalan endometrium mencit $\pm$ Std. Deviasi (μm)	Rerata ketebalan miometrium mencit $\pm$ Std. Deviasi (μm)
K	388 $\pm$ 123,6 ^a	3320 $\pm$ 1257,4 ^a
K1	218,7 $\pm$ 135,9 ^b	940,2 $\pm$ 364,8 ^b
K2	158 $\pm$ 39 ^b	1066,8 $\pm$ 201,2 ^b

Keterangan : 1. *n* setiap perlakuan = 5
 2. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama adalah tidak berbeda nyata ($\alpha = 5\%$)
 3. K = kontrol dengan pemberian NaCMC 0,5%
 K1 = perlakuan dengan pemberian fraksi *n*-heksana + NaCMC 0,5%
 K2 = perlakuan dengan pemberian fraksi etil asetat + NaCMC 0,5%

. Tabel 2. Hasil pemeriksaan kandungan fitokimia masing-masing fraksi

Kandungan fitokimia	Fraksi <i>n</i> -heksana	Fraksi etil asetat
Alkaloid	+	-
Flavonoid	+	+
Saponin	+	+
Tanin	+	+
Triterpenoid	+	+

Keterangan : (+) mengandung senyawa kimia yang di uji, (-) tidak mengandung senyawa kimia yang di uji

b. Identifikasi golongan senyawa aktif yang terdapat pada fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat

Golongan senyawa aktif yang terdapat pada fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat dapat dilihat pada Tabel 2 Data yang tersaji pada tabel 1 di atas menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata terhadap uterus yaitu dengan menurunkan ketebalan dinding uterus, baik endometrium maupun miometrium. Apabila ketebalan dinding endometrium kurang, maka akan terjadi gangguan pada saat implantasi oleh zigot, hal ini akan memperkecil kemungkinan terjadinya kehamilan. Hal yang senada disampaikan oleh Abdalla, dkk., (1994) dalam Putri (2007) bahwa semakin tipis endometrium akan memperkecil tingkat kehamilan.

Miometrium merupakan berkas serat otot polos yang dipisahkan oleh jaringan ikat. Apabila terjadi kehamilan, maka miometrium ini akan tumbuh dengan cepat sebagai akibat dari hiperplasia (bertambahnya jumlah sel otot polos) dan hipertrofi (bertambahnya ukuran sel). Pada saat terjadi penurunan ketebalan miometrium maka miometrium tidak dapat mempertahankan zigot yang tertanam pada lapisan mukosa di endometrium.

Kedua perlakuan yaitu fraksi *n*-heksana kulit batang durian 20% dan

fraksi etil asetat kulit batang durian 20% berbeda nyata dengan kontrol, tetapi perlakuan dengan pemberian fraksi *n*-heksana kulit batang durian tidak menunjukkan adanya beda nyata dengan perlakuan yang diberikan fraksi etil asetat kulit batang durian. Hal ini diduga karena kedua kandungan fitokimia yang ada pada kedua fraksi tersebut relatif sama.

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.

Menurut Robinson (1995) isoflavon dari golongan flavonoid, saponin dan alkaloid merangsang pembentukan estrogen pada mamalia, dan dari strukturnya ada kemiripan dengan hormon estrogen. Menurut Gruber, dkk., (2002). 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-hipofisis-ovarium 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. Terganggunya sintesis hormon estrogen akan menyebabkan terhambatnya proliferasi sel penyusun dinding dalam uterus atau endometrium. Selain itu, fungsi hormon progesteron sebagai pendukung kerja estrogen yaitu dengan menebalkan dinding dalam uterus atau endometrium dan menumbuhkan pembuluh darah pada endometrium juga akan terganggu (Junquiera dan Jose, 1995).

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.

Kesimpulan

Efek antifertilitas fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat kulit batang durian konsenrasi 20% dapat mengurangi ketebalan lapisan endometrium maupun lapisan

miometrium uterus menciit sehingga berpengaruh terhadap struktur histologi uterus.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek samping pemberian ekstrak kulit batang durian terhadap organ tubuh lainnya.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional yang telah membiayai penelitian ini melalui dana Hibah Fundamental pada tahun anggaran 2008.

DAFTAR PUSTAKA

Nurliani, A. 2004. *Skripsi : Gambaran Mikroanatomi Tubulus Seminiferus Mencit (Mus musculus L.) setelah pemberian Ekstrak Kulit Batang Durian (Durio zibethinus Murr.)*. UNLAM. Banjarbaru. (tidak dipublikasikan).

De Padua. 1978. *Durio – a bibliographic review, Medicinal and Toxicological Properties*. <http://www.ipgri.cgiar.org/regions/apo/publications/durio/durio-3.pdf>.

Gruber, J.C., Tschugguelli M.D., Schneeberger, Christian, Huber, dan Johannes C., 2002, *Production and Actions of Estrogens*, The New England Journal of Medicine, 346(5).

Hairani, B. 2006. *Pengaruh Ekstrak Kulit Kayu Durian (Durio zibethinus Murr.) Pada Jumlah Molekul De Graaf*

Mencit Betina (Mus musculus L) Galur Balb. Skripsi. FMIPA Unlam. Banjarbaru (tidak dipublikasikan).

Junqueira, L. C. & C. Jose. 1995. *Histologi Dasar Edisi 3*. ECG. Jakarta.

Kahle, W., H. Leonhardt, dan W. Pletzer, 2006. *Human Anatomy*. Mc Graw Hill, New York

Meddish, R. 1975. *Statistical Handbook for Non-statisticiabs*. University of Technology. Loughborough. Mc Graw-Hill Book Company (UK), limit

Media Indonesia online. 2006. <http://situs.kesrepro.info/kb/agu/2006/kb01.htm>. Diakses tanggal 13 Oktober 2008.

Putri, R. 2007. *Struktur Mikroanatomi Uterus Mencit (Mus musculus) Galur swiss setelah pemberian Ekstrak Kulit Batang Durian (Durio zibethinus Murr)*. Skripsi. FMIPA Unlam. Banjarbaru (tidak dipublikasikan).

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB. Bandung.

Turner dan Bagnara. 1980. *Endokrinologi Umum*. Airlangga University press. Yogyakarta.

Winarno, M.W. dan Dian, S. 1997. *Informasi tanaman Obat Untuk Kontrasepsi Tradisional*. Cermin Dunia Kedokteran. 120 : 25-28