

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban) TERHADAP KONSENTRASI TESTOSTERON PADA TIKUS PUTIH JANTAN (*Rattus norvegicus*)

The Effect of Pegagan Leaf Extract (Centella asiatica (L.) Urban) Administration on Testosterone Concentration of Male White Rats (Rattus norvegicus)

Muslim Akmal¹, Mulyadi Adam², Muhammad Toras³, Rusli⁴, Rinidar⁵, dan Triva Murtina Lubis²

¹Laboratorium Histologi dan Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

²Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁴Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

⁵Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

E-mail: muhammadtoras@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan terhadap konsentrasi testosteron pada tikus putih jantan. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola *one way analysis of varian* (ANOVA). Tikus yang digunakan adalah tikus jantan berumur 3-3,5 bulan dengan berat badan 150-250 g sebanyak 12 ekor. Tikus-tikus tersebut dikelompokkan menjadi empat kelompok perlakuan dengan masing-masing tiga ulangan. Kelompok pertama yang merupakan kelompok kontrol (K0) diberikan pakan komersil (T794P, Pokphand), kelompok K1, K2, dan K3 diberi pakan dan ekstrak daun pegagan dengan dosis bertingkat yaitu 125, 250, dan 500 mg/kg bobot badan selama 30 hari. Pada akhir perlakuan, diambil darah tikus sebanyak 1-2 ml pada vena orbitalis lalu disentrifus sehingga diperoleh plasma darah. Konsentrasi testosteron dalam plasma darah diperiksa dengan menggunakan metode *enzim-linked immunosorbent assay* (ELISA). Data dianalisis dengan ANOVA. Rataan konsentrasi testosteron pada K0; K1; K2; dan K3 masing-masing $4,66 \pm 1,93$; $4,28 \pm 3,70$; $4,01 \pm 4,93$; dan $3,71 \pm 0,83$. Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa ekstrak daun pegagan tidak berpengaruh terhadap konsentrasi testosteron ($P > 0,05$).

Kata kunci: ekstrak daun pegagan, testosteron, ELISA, *Rattus norvegicus*

ABSTRACT

The aim of this research was to find the effect of pegagan leaf extract on testosterone concentration of male rat. The research was conducted using completely randomized design with one way analysis of varian (ANOVA). Twelve rats with age of 3.0-3.5 months and weight of 150-250 g were used in this study. The rats were divided into four groups with three replications each. As a control (K0), the rats were given commercial diet (T794P, Pokphand) only. The other three groups were given diet and pegagan leaf extract with dose of 125 (K1), 250 (K2), and 500 mg/kg BW (K3) for 30 days. Rat's blood plasma was collected from orbitalis vein at the end of treatment. Testosterone concentration was measured by ELISA method. The data was analyzed using ANOVA. The result showed that the average of testosterone concentration decreased compare to control groups. The highest of testosterone concentration was K0 (4.66 ± 1.93), followed K1 (4.28 ± 3.70), K2 (4.01 ± 4.93), and K3 (3.71 ± 0.83). The statistical result showed that the concentration of testosterone was not affect by pegagan leaf extract ($P > 0.05$).

Key words: pegagan leaf extract, testosterone, ELISA method, *Rattus norvegicus*

PENDAHULUAN

Menurut Badan Pusat Statistik Republik Indonesia, jumlah penduduk Indonesia pada tahun 2010 adalah sebanyak 237.641.326 jiwa (BPS RI, 2010). Salah satu cara yang dilakukan pemerintah untuk mengendalikan jumlah penduduk tersebut adalah melalui program keluarga berencana (KB). Akan tetapi, program KB belum berjalan secara optimal sesuai yang diharapkan akibat masih rendahnya partisipasi pasangan hidup terutama kaum pria. Rendahnya partisipasi pria dalam program KB disebabkan belum tersedianya alat kontrasepsi yang ideal (Andria, 2012).

Tanaman masih merupakan sumber utama dalam pencarian obat baru. Pemanfaatan tanaman obat atau bahan alam masih merupakan prioritas untuk diteliti. Selain toksisitasnya rendah, mudah diperoleh, efek yang ditimbulkan juga relatif rendah (Rusmiati, 2007). Chuthbert dan Wong (1986) menyatakan bahwa berbagai jenis tanaman di Indonesia dapat dimanfaatkan sebagai bahan alami untuk membuat obat

kontrasepsi atau antifertilitas. Salah satu tanaman yang diduga dapat digunakan sebagai obat tradisional sebagai bahan antifertilitas yang bersifat alami adalah daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban).

Tanaman pegagan banyak dimanfaatkan sebagai obat untuk penyembuhan luka, radang, reumatik, asma, wasir, tuberkulosis, lepra, disentri, demam, dan penambah selera makan. Selain hal tersebut, pegagan mudah didapat yang banyak ditemukan di daerah perkebunan, ladang, tepi jalan, pematangan sawah, ataupun di ladang yang agak basah (Besung, 2009). Pegagan mengandung berbagai bahan aktif seperti triterpenoid yang meliputi asiaticosida, centellosida, madecossida, asam asiatik dan komponen yang lain adalah minyak volatil, flavonoid, tanin, fitosterol, asam amino, dan karbohidrat (Besung, 2009).

Bahan utama yang dikandung daun pegagan adalah triterpenoid glikosida yang termasuk golongan steroid yang merupakan bahan baku untuk mensintesis hormon testosteron (Sastroamidjojo, 1997). Winarno (1997) melaporkan bahwa triterpenoid glikosida dapat

menghambat enzim yang berfungsi mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen yang akan meningkatkan konsentrasi hormon testosteron. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Susetyarini (2005) yang menyatakan bahwa apabila konsentrasi hormon testosteron tinggi atau rendah terhadap ambang normal akan berakibat *negatif feed back* ke hipotalamus.

Testosteron merupakan hormon seks pria yang disekresikan oleh testis bersama dengan hormon lainnya. Testosteron diproduksi oleh sel Leydig di bawah pengaruh *luteinizing hormone* (LH) yang sangat berperan dalam menstimulasi terjadinya proses spermatogenesis, sehingga konsentrasi testosteron merupakan salah satu gambaran fertilitas pada pria (Guyton, 1995).

Daun pegagan dapat bekerja sebagai antifertilitas alami pada pria. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Noor dan Ali (2004) menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun pegagan dapat menginduksi gangguan spermatogenesis melalui pengamatan lumen tubulus seminiferus secara histologi pada mencit. Hasil penelitian Hasanah (2009) juga menunjukkan bahwa ekstrak daun pegagan dapat menurunkan jumlah sel-sel spermatogenik yang meliputi sel spermatogonium, spermatosit, dan sel spermatid pada mencit dengan dosis 125 mg/kg bobot badan.

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka peneliti tertarik untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun pegagan sebagai kandidat kontrasepsi berbasis bahan alami pada pria berdasarkan kajian terhadap konsentrasi hormon testosteron dengan menggunakan tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan coba.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan 12 sampel plasma darah tikus. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola *one way analysis of varian* (ANOVA). Tikus yang digunakan adalah tikus jantan berumur 3-3,5 bulan dengan bobot badan 150-250 g. Tikus-tikus tersebut dikelompokkan menjadi 4 kelompok perlakuan dengan masing-masing tiga ulangan. Kelompok pertama yang merupakan kelompok kontrol (K0), tidak diberi perlakuan (diberi pakan dan minum). Kelompok K1, K2, dan K3, diberi perlakuan berupa ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban). Pada kelompok K1, K2, dan K3 diberi ekstrak daun pegagan dengan dosis masing-masing 125, 250, dan 500 mg/kg bobot badan. Ekstrak daun pegagan diberikan pada tikus sekali setiap hari yaitu pada pagi hari pukul 08.00-10.30 WIB selama 30 hari.

Pembuatan Ekstrak Daun Pegagan

Daun pegagan disortasi basah agar terpisah dari kotoran yang melekat, lalu dicuci sampai bersih. Setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak terkena sinar matahari langsung sampai kering kira-kira selama tiga hari. Daun pegagan yang

telah kering, direndam dalam etanol 70% selama dua hari. Kemudian hasil rendaman tersebut disaring pertama dengan saringan teh kemudian disaring dengan kertas saring untuk mendapatkan filtratnya. Filtrat tersebut dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai pelarut menguap hingga diperoleh ekstrak yang kental.

Pengambilan Sampel Darah

Setelah pemberian pegagan selama 30 hari berturut-turut sesuai dosis, dilakukan pengambilan darah melalui vena orbitalis tikus jantan dan ditampung dalam tabung eppendorf yang telah diisi dengan antikoagulan *ethylene diamine tetra acetic acid* (EDTA). Darah kemudian disentrifus dengan kecepatan 5000 *rotation per minute* (RPM) selama 5 menit. Cairan plasma dipisahkan dengan menggunakan spuit 1 ml dan dimasukkan dalam tabung eppendorf baru dan disimpan di lemari pendingin dengan suhu minus (-) 20° C, kemudian dilakukan pemeriksaan konsentrasi testosteron dengan metode *enzim-linked immuno-sorbent assay* (ELISA).

Prosedur ELISA

Pada masing-masing *well* dimasukkan 25 µl larutan standar, sampel, dan kontrol, yang dicampur masing-masing dengan 200 µl reagen konjugat testosteron. Selanjutnya, larutan diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruangan. Dan kocok dengan cepat untuk dikeluarkan isi *well*, *well* dibilas sebanyak 3 kali dengan menambahkan larutan pencuci sebanyak 400 µl pada setiap *well*. Pada masing-masing *well* dimasukkan sebanyak 200 µl larutan *substrat solution* dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruangan. Reaksi enzimatis dihentikan dengan menambahkan 100 µl *stop solution* ke masing-masing *well*. Nilai absorbansi dibaca pada ELISA *reader* setelah 10 menit dengan absorbansi 450±10 nm.

Analisis Data

Data hasil penghitungan konsentrasi testosteron dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Tukey HSD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan konsentrasi hormon testosteron menggunakan teknik ELISA sesuai dengan dosis perlakuan yang disajikan pada Tabel 1.

Meskipun secara statistik tidak berbeda, tetapi konsentrasi hormon testosteron cenderung lebih rendah pada kelompok dengan pemberian ekstrak daun pegagan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Dari Tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata konsentrasi hormon testosteron tikus yang terendah pada kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak daun pegagan pada dosis 500 mg/kg bobot badan yaitu 3,71±0,83 ng/ml (K3) kemudian diikuti perlakuan dengan dosis 250 mg/kg bobot badan sebesar 4,01±4,93 ng/ml (K2), dan dosis 125 mg/kg bobot badan sebesar 4,28±3,70 ng/ml (K1).

Tabel 1. Rataan (\pm SD) konsentrasi hormon testosteron setelah pemberian ekstrak daun pegagan selama 30 hari berturut-turut

Kelompok perlakuan	Konsentrasi testosteron (ng/ml)
K0 (pakan komersial tanpa pemberian ekstrak daun pegagan)	4,66 \pm 1,93 ^a
K1 (pakan komersial dengan pemberian ekstrak daun pegagan 125 mg/kg bobot badan)	4,28 \pm 3,70 ^a
K2 (pakan komersial dengan pemberian ekstrak daun pegagan 250 mg/kg bobot badan)	4,01 \pm 4,93 ^a
K3 (pakan komersial dengan pemberian ekstrak daun pegagan 500 mg/kg bobot badan)	3,71 \pm 0,83 ^a

^aSuperskrip yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$)

Kecenderungan penurunan konsentrasi hormon testosteron dapat disebabkan oleh adanya pengaruh pemberian ekstrak daun pegagan walaupun secara statistik tidak bermakna. Penurunan konsentrasi hormon testosteron akan menghambat proses spermatogenesis akibat adanya mekanisme *feedback* terhadap *follicle stimulating hormone* (FSH) dan (LH). Partodiharjo (1992) menyatakan bahwa penurunan testosteron disebabkan terganggunya aktivitas adenil siklase karena kecilnya konsentrasi LH. Gangguan ini mengakibatkan *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) menurun dan diikuti menurunnya fosforilasi protein intraseluler. Dengan menurunnya fosforilasi protein, proses pembelahan (mitosis dan meiosis) pada spermatogenesis menjadi terhambat. Terhambatnya spermatogenesis akan menghasilkan spermatid abnormal (Zhang, 2003).

Hormon LH merangsang sel Leydig untuk mensekresikan hormon testosteron, sedangkan hormon FSH merangsang sel Sertoli untuk mensekresikan *androgen binding protein* (ABP). Hormon testosteron akan diikat oleh ABP sehingga konsentrasi hormon tersebut tetap normal dalam tubulus seminiferus dan berguna dalam proses spermatogenesis. Apabila konsentrasi LH menurun, maka akan diikuti dengan penurunan pada konsentrasi testosteron (Nizamuddin, 1999). Hormon testosteron diperlukan untuk sintesis reseptor FSH pada sel Leydig. Penurunan konsentrasi FSH akan menurunkan sekresi ABP, sehingga apabila terjadi penurunan hormon testosteron sedikit saja akan mampu menimbulkan gangguan pada spermatogenesis (Bardin *et al.*, 1988). Menurut Johnson dan Thomson (1986), bahwa jumlah sel Leydig testis berkorelasi dengan volume total sel Leydig dan konsentrasi LH, jika konsentrasi hormon LH turun maka jumlah sel Leydig akan berkurang.

Biosintesis hormon steroid di dalam testes diawali dengan adanya pemindahan kolesterol dari luar ke dalam membran mitokondria yang difasilitasi oleh *steroidogenic acute regulatory protein* (STAR) (Miller dan Strauss, 1999). Sampai saat ini, diketahui bahwa konversi kolesterol menjadi pregnenolon dikatalisis oleh enzim P450 (Hadley, 2000) yang berlokasi di dalam membran mitokondria melalui pengaktifan protein kinase. Protein kinase terhambat karena hadirnya senyawa flavonoid sehingga menyebabkan hormon testosteron dan proses spermatogenesis terganggu (Ganong, 1983).

Menurut Nurliani dan Budi (2005) menyatakan bahwa zat aktif triterpenoid glikosida yang terkandung pada daun pegagan cara kerjanya sama dengan steroid yaitu dengan cara penekanan terhadap sekresi

gonadotropin yang berakibat menurunkan hormon testosteron. Akan tetapi, triterpenoid bersifat reversibel. Hal tersebut sesuai dengan Susetyarini (2005) yang menyatakan bahwa apabila konsentrasi hormon testosteron tinggi atau rendah terhadap ambang normal akan berakibat *negatif feed back* ke hipotalamus yang mengakibatkan terganggunya proses spermatogenesis. Sedangkan menurut Andria (2012) menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun pegagan pada dosis tinggi yaitu 560, 630, dan 700 mg/kg bobot badan setiap hari selama 10 hari menunjukkan adanya pengaruh terhadap konsentrasi hormon estradiol dan progesteron pada tikus putih betina.

Penurunan konsentrasi testosteron dalam penelitian ini tidak bermakna secara statistik, namun berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan ekstrak daun pegagan memiliki pengaruh terhadap proses spermatogenesis tikus jantan dan konsentrasi hormon estradiol dan progesteron tikus betina. Hal tersebut berarti ada kecenderungan dari daun pegagan sebagai anti androgenik (antifertilitas) yang mampu menghambat proses sintesis testosteron pada tikus jantan. Pendapat tersebut dikemukakan oleh Hadley (1992) yang menyatakan bahwa senyawa anti androgenik dapat menghambat aksi testosteron karena senyawa ini menduduki reseptor testosteron. Schenck dan Neumann (1978) menyatakan bahwa anti-androgen dapat mencegah ikatan antara testosteron atau dihidrotestosteron dengan ABP, sehingga akan menghambat terjadinya spermatogenesis.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) tidak memengaruhi konsentrasi hormon testosteron tikus putih jantan *strain* Wistar.

DAFTAR PUSTAKA

- Andria, Y. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap Kadar Hormon Estradiol dan Kadar Hormon Progesteron Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina. **Tesis**. Universitas Andalas. Padang.
- Badan Pusat Statistik Republik Indonesia (BPS RI). 2010. **Statistik Penduduk**. BPS RI, Jakarta.
- Bardin, C.W., C.Y. Cheng, N.A. Musto, and G.L. Gunsalus. 1988. The Sertoli Cell. In **The Physiology of Reproduction**. Knobil, E. and J. D. Neill (Eds.). Raven Press, New York.
- Besung, K.I. 2009. Pegagan (*Centella asiatica*) sebagai alternatif pencegahan infeksi pada ternak. **Jurnal Penelitian**. 2(1):26-30.
- Chuthbert, A.W and P.Y.D. Wong. 1986. Electrogonadotropin secretion in cultured rat epididymal epithelium. **Physiol**. 78:335-345.
- Ganong, W.F. 1983. **Fisiologi Kedokteran**. Penerbit EGC Buku Kedokteran, Jakarta.

- Guyton, A.C. 1995. **Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit.** (Diterjemahkan Andriyanto, P.). EGC. Penerbit EGC Buku Kedokteran, Jakarta.
- Hadley, M.E. 1992. **Endocrinology.** Prentice-Hall. Inc. Simon and Schuster Company. Englewood Cliffs, New Jersey.
- Hadley, M.E. 2000. Adrenal steroid hormone. In **Endocrinology.** Hadley, M.E. (Ed.). 5th ed. Englewood. N.J. Prentice-Hall, London.
- Hales, D.B. 1996. **Macrophage Leydig Cell Interactions: An Overview in The Leydig Cell.** Payne, A.H., M.P. Hardy, and L.D. Russell (Eds.). Cache River Press, Vienna.
- Hasanah, I.W. 2009. Pengaruh Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica*) terhadap Spermatogenesis Mencit (*Mus musculus*). **Skripsi.** Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Johnson, L. and D.L. Thompson. 1986. Seasonal Variation in the total volume of leydig cells in stallion is explained by variation in cell number rather than cell size. **Biol. Reprod.** (52):971-979.
- Miller, W.L. and J.F. Strauss. 1999. Molecular pathology and mechanism of action of the steroidogenic acute regulatory protein, StAR. **J. Steroid Biochem. Mol. Biol.** 69:131-141.
- Nizamuddin.1999. Pengaruh pemberian MSG per oral pada berat badan dan berat testis. **Jurnal Kedokteran YARSI.** 7(1):63-73.
- Noor, M.M. dan N.M. Ali. 2004. Kesan in vivo ekstrak daun Centella asiatica ke atas histologi testis dan kualiti sperma mencit. **Sains Malaysiana.** 2:97-103.
- Nurliani, A.R. dan S.H. Budi. 2005. Perkembangan sel spermatogenik mencit (*Mus musculus*) setelah pemberian ekstrak kulit kayu durian (*Durio zibethinus murr.*). **Berkala Penelitian Hayati.** 11:77-79.
- Partodihardjo, S. 1992. **Ilmu Reproduksi Hewan.** Mutiara Sumber Widya, Jakarta.
- Rusmiati. 2007. Pengaruh ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L*) terhadap viabilitas spermatozoa mencit jantan (*Mus musculus L*). **J. Bioscien.** 4(2):34-38.
- Sastroamidjojo, S. 1997. **Obat Asli Indonesia.** Dian Rakyat, Jakarta.
- Schenck, B. and F. Neumann. 1978. Influence of antiandrogens on sertoli cell function and intratesticular androgen transport. **IJA.** 7:459-470.
- Susetyarini, E. 2005. Antispermatojenik Daun Beluntas (*Pluchea indica Less*) pada Tikus Putih Jantan (*Ratus norvegicus*). **Laporan Penelitian.** UMM, Malang.
- Winarno, W. 1997. **Informasi Tanaman Obat untuk Kontrasepsi Tradisional.** Jakarta.
- Zhang F.P. 2003. the low gonadotropin independent constitutive production of testicular testosterone is sufficient to maintain spermatogenesis. **PNAS.** 100(23):13692-13697.