

Pengaruh Pemberian Ekstrak Daging Buah Pare Hijau (*Momordica charantia* L.) Terhadap Siklus Birahi Mencit (*Mus musculus*) yang Disuperovulasi dengan PMSG dan HCG

The Effect of Green Bitter Melon Fruit Flesh (*Momordica charantia* L.) Extract on Mice (*Mus musculus*) Estrous Cycle which Superovulated with PMSG and HCG

¹Galuh Chandra Agustina, ²Imam Mustofa, ²Agus Sunarso

¹ PPDH Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

² Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Kampuc C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya – 60115

Telp. 031-5992785, Fax. 031-5993014

Email : vetunair@telkom.net

Abstract

This study aimed to determine the effect of bitter melon fruit flesh (*Momordica charantia* L.) extract on mice (*Mus musculus*) estrous cycle which superovulated with PMSG and hCG. Bitter melon fruit is known to contain flavonoids and triterpenoids that are antigonadotropin. Thirty two head of mice were randomly divided into four groups, then superovulated by using 5 IU PMSG and 5 IU hCG intraperitoneally. The study used bitter melon fruit flesh extract dosage 0 mg/g bw, 0.667 mg/g bw, 1.00 mg/g bw, and 1.33 mg/g bw in 5% CMC respectively. Treatment carried 0.5 ml orally twice a day for ten days. Identification of estrous cycle conducted by examining vaginal smear administered four times a day, for ten days after treatment. The results of the study showed that the bitter melon fruit flesh extract was not significantly ($p>0.05$) affect of proestrous and metestrous phase. All dose of bitter melon fruit flesh extract in this study was significantly extend ($p<0.05$) of estrous phase, meanwhile 1.00 mg/g bw and 1.33 mg/g bw dose of bitter melon fruit extract was significantly shorten ($p>0.05$) of diestrus phase. There were significantly extend ($p<0.05$) of mice treated with all dose of bitter melon fruit flesh compared to nontreated mice.

Keywords : mice, bitter melon fruit, estrous cycle

Pendahuluan

Peningkatan jumlah penduduk yang sangat pesat menimbulkan masalah baru bagi pemerintah, maka perlu dilakukan program keluarga berencana (KB) untuk mengendalikan pertumbuhan penduduk. Banyaknya pasangan yang tidak melakukan KB disebabkan kekhawatiran akan efek samping penggunaan alat kontrasepsi yang ada. Bahan kontrasepsi yang ideal adalah yang dapat mencegah fertilisasi dan tidak menimbulkan efek samping pada siklus menstruasi.

Salah satu bahan herbal yang berpotensi sebagai kontrasepsi adalah pare hijau. Menurut Kellis *et al.* (1984) yang dikutip oleh Hernawati (2011), zat flavonoid hasil sintesis buah pare dapat menghambat enzim aromatase. Enzim aromatase berfungsi mengkatalisis konversi androgen menjadi estrogen. Dengan dihamatnya enzim tersebut, maka jumlah

androgen akan meningkat. Tingginya konsentrasi androgen akan menyebabkan umpan balik negatif ke hipofisa anterior tidak melepaskan FSH dan atau LH. Menurut Adimoelja (1987) yang dikutip oleh Supriyono (2006) tidak dilepaskannya FSH dan LH mengakibatkan gangguan pada proses pematangan folikel, ovulasi dan pembentukan korpus luteum, sehingga flavonoid bisa disebut sebagai antigonadotropin. Sifat antigonadotropin dapat menyebabkan antifertilitas dan diduga dapat menimbulkan efek samping perubahan siklus birahi.

Pemberian ekstrak biji buah Pare dengan menggunakan petroleum eter, benzena, alkohol pada dosis 25 mg/100 g BB yang diberikan pada tikus putih secara oral selama 30 hari diperoleh hasil adanya perubahan siklus estrus, penurunan berat ovarium, penurunan jumlah folikel, folikel de Graaf, korpus luteum, sedangkan folikel

atresia meningkat, kadar kolesterol dan glukosa dalam ovarium meningkat, berat dan ukuran uterus meningkat (Sharanabasappa *et al.*, 2002).

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak daging buah pare hijau (*Momordica charantia* L.) terhadap siklus birahi (fase proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus) serta lamanya satu siklus birahi pada mencit (*Mus musculus*) yang disuperovulasi dengan PMSG dan hCG, mengingat beberapa bahan aktif yang terkandung dalam buah pare yang diduga berpotensi sebagai bahan yang bersifat antifertilitas pada mencit betina sebagai pilihan alat kontrasepsi dari bahan alam.

Materi dan Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga sedangkan untuk ekstraksi buah pare dilakukan di Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya. Bahan dan alat penelitian yang digunakan adalah ekstrak daging buah pare, ethanol 96%, CMC 0,5%, aquadest, sekam, mencit betina fertil umur delapan minggu dengan berat badan 18-20 gram, pakan pelet, air minum, kandang mencit, tempat pakan dan minum mencit, PMSG (*Pregnant Mare Serum Gonadotrophin*), hCG (*Human Chorionic Gonadotrophin*), NaCl 0,9%, methanol, pewarna Giemsa, *disposable syringe* dengan jarum tumpul (Sonde), alat ekstraksi, *cotton bud*, gelas objek, dan mikroskop.

Ekstraksi buah pare dilakukan dengan cara maserasi dengan merendam pada pelarut ethanol 96%. Pemberian ekstrak buah pare diencerkan dengan CMC 0,5% dari larutan yang diinginkan untuk tiap Perlakuan. Penelitian ini menggunakan mencit betina strain Balb/C sebanyak 32 ekor yang terbagi kedalam empat kelompok perlakuan secara acak.

Sebelum perlakuan mencit betina diadaptasikan selama 7 hari, kemudian dilakukan superovulasi dengan memberikan PMSG (*Pregnant Mare Serum Gonadotrophin*) dengan dosis 5 IU / ekor 3 hari sebelum perlakuan dan dilakukan penyuntikan hCG (*Human Chorionic Gonadotrophin*) dengan dosis 5 IU / ekor sehari sebelum perlakuan yang diinjeksikan secara intraperitoneal (Mustofa, 2006). Mencit betina selanjutnya diberi ekstrak daging buah pare secara per oral sesuai dosis perlakuan yang dilarutkan dalam suspensi CMC

0,5%. Pemberian ekstrak diulang setiap 12 jam selama 10 hari.

Kelompok perlakuan dibagi menjadi empat, yaitu perlakuan 1 (P1) kelompok dengan dosis ekstrak daging buah pare 0 mg/g BB, perlakuan 2 (P2) diberi ekstrak daging buah pare dengan dosis 0,667mg/g BB, perlakuan 3 (P3) diberi ekstrak daging buah pare dengan dosis 1,00 mg/g BB, dan perlakuan 4 (P4) diberi ekstrak daging buah pare dengan dosis 1,33 mg/g BB. Semua dosis diencerkan dengan CMC 0,5% dan diberikan secara per oral.

Setelah mendapat perlakuan ekstrak daging buah pare dilakukan pemeriksaan siklus birahi dengan melihat ulas vagina mencit. Ulas vagina dilakukan empat kali sehari selama 10 hari, kemudian dilihat menggunakan mikroskop untuk mengetahui fase siklus birahinya.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Analisis data menggunakan Uji ANAVA (*Analysis of Varian*) kemudian dilanjutkan dengan Uji BNJ (Berat Nyata Jujur) (Kusriningrum, 2011).

Hasil dan Pembahasan

Hasil pemeriksaan ulas vagina setelah pemberian ekstrak daging buah pare secara per oral terhadap siklus birahi mencit yang disuperovulasi dengan PMSG dan hCG disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Rerata dan simpangan baku lamanya siklus birahi tiap fase (jam)

Perlakuan	Siklus Birahi ($\bar{x} \pm SB$)			
	Proestrus	Estrus	Metestrus	Diestrus
P1	18,86 ^a $\pm 9,44$	69,43 ^a $\pm 11,93$	110,57 ^a $\pm 11,93$	41,14 ^a $\pm 10,64$
P2	15,60 ^a $\pm 5,37$	79,20 ^{ab} $\pm 27,95$	105,60 ^a $\pm 12,44$	39,60 ^a $\pm 21,88$
P3	12,00 ^a $\pm 6,00$	100,80 ^{ab} $\pm 37,33$	118,80 ^a $\pm 34,57$	8,40 ^b $\pm 12,44$
P4	12,00 ^a $\pm 8,49$	125,00 ^b $\pm 36,28$	96,00 ^a $\pm 31,52$	7,00 ^b $\pm 5,90$

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

P1 = tidak diberi ekstrak daging buah pare hijau

P2 = diberi ekstrak daging buah pare hijau dosis 0,667 mg/g BB

P3 = diberi ekstrak daging buah pare hijau dosis 1,00 mg/g BB

P4 = diberi ekstrak daging buah pare hijau dosis 1,33 mg/g BB

Pemeriksaan siklus birahi dengan ulas vagina ditandai dengan adanya sel-sel epitel berinti, menanduk, dan leukosit. Pada fase proestrus ditandai dengan adanya sel-sel epitel berinti. Fase estrus pada ulasan vagina terlihat sel epitel menanduk. Fase metestrus banyak ditemukan leukosit dan sel epitel menanduk. Sedangkan pada fase diestrus ditemukan sel leukosit yang hampir merata.

Pemberian ekstrak daging buah pare hijau tidak menyebabkan perbedaan yang nyata ($p>0,05$) lamanya fase proestrus dan metestrus pada perlakuan P1, P2, P3, dan P4. Ekstrak daging buah pare hijau dapat menyebabkan fase estrus lebih panjang secara nyata ($p<0,05$) pada perlakuan P2, P3, dan P4 dan fase diestrus lebih pendek secara nyata ($p<0,05$) pada perlakuan P3 dan P4.

Perubahan siklus birahi kelompok perlakuan pertama (P1) pada fase proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus berturut-turut hasilnya adalah 18,86 jam, 69,43 jam, 110,57 jam, dan 41,14 jam. Menurut Fox and Laird (1970) fase proestrus berlangsung selama 12-14 jam, fase estrus 9-15 jam, fase metestrus 21 jam, dan fase diestrus 60-70 jam. Perubahan lama siklus birahi pada penelitian ini dipengaruhi oleh perlakuan superovulasi dengan PMSG dan hCG. Hasil penyerentakan menyebabkan fase estrus dan metestrus lebih panjang dan fase diestrus lebih pendek.

Penyuntikan PMSG merangsang pembentukan folikel pada ovarium dan beberapa folikel kemudian ovulasi tetapi sebagian besar mengalami luteinisasi (Ismudiono dkk., 2010). Pembentukan folikel yang banyak akan mensekresi hormon estrogen dalam darah menjadi tinggi sehingga timbul umpan balik negatif ke hipofisa anterior untuk tidak melepaskan FSH lagi. Tingginya kadar estrogen dalam darah akan memperpanjang siklus birahi.

Human Chorionic Gonadotrophin (hCG) mempunyai aksi kombinasi FSH dan LH, tetapi aksi LH lebih dominan. Meningkatnya kadar LH saat preovulasi menyebabkan pecahnya dinding folikel dan terjadi ovulasi (Ismudiono dkk., 2010). Hormon LH mendorong perkembangan akhir masaknya sel folikel dan mendorong perkembangan korpus luteum yang mensekresi progesteron (Musahilah, 2010). Kadar progesteron yang tinggi terjadi pada fase metestrus dan diestrus. Induksi kombinasi PMSG dan hCG pada fase folikuler

menghasilkan estrogen lebih tinggi daripada progesteron (Fitrianti, 2001).

Hasil pemeriksaan siklus birahi setelah diberi ekstrak daging buah pare hijau dengan dosis 0 mg/g BB; 0,667 mg/g BB; 1,00 mg/g BB; dan 1,33 mg/g BB tidak mempengaruhi fase proestrus dan metestrus mencit (Tabel 1). buah pare yang mengandung flavonoid dan triterpenoid memiliki sifat yang mirip dengan hormon estrogen (Nurliani, 2007) yang dapat menyebabkan siklus birahi menjadi lebih panjang karena terhambatnya fase folikuler dan fase luteal. Masuknya steroid menekan pelepasan FSH berakibat berkurangnya jumlah folikel maupun korpus luteum (Musahilah, 2010).

Lama fase proestrus tidak berbeda nyata pada semua perlakuan karena dosis yang diberikan pada waktu tersebut mampu meningkatkan kadar estrogen yang tinggi dalam darah. Kadar estrogen yang tinggi dalam darah akan memicu umpan balik negatif ke hipofisa anterior untuk tidak melepaskan FSH dan menimbulkan umpan balik positif pada hipofisa anterior untuk mensekresi LH saat praovulasi. Kadar LH yang tinggi ini merupakan fase metestrus awal dimulainya ovulasi. Jika dibandingkan dengan siklus birahi normal secara keseluruhan fase metestrus lebih panjang, tetapi bila dibandingkan dengan tiap perlakuan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata. Hal ini dikarenakan permulaan fase metestrus ditandai dengan tingginya kadar estrogen.

Tingginya kadar hormon estrogen dalam darah memperpanjang siklus estrus dan menghambat aktifitas hipofisa anterior untuk mensekresi hormon FSH sehingga perkembangan folikel diovarium terhambat (Rusmiati, 2010). Fase estrus merupakan fase dimana sekresi estrogen tinggi (Turner and Bagnara, 1988). Seperti telah dijelaskan sebelumnya, pertumbuhan folikel yang cepat dan matang akan mensekresi hormon estrogen. Aksi zat flavonoid dan triterpenoid lebih mirip estrogen dibanding progesteron. Fase diestrus dimulai dengan kadar progesteron yang tinggi dalam darah. Kadar hormon progesteron yang tinggi dihasilkan oleh korpus luteum setelah terjadi ovulasi. Folikel yang matang dan mengalami ovulasi jumlahnya menurun sehingga korpus luteum yang terbentuk dan mensekresi progesteron juga menurun. Kadar progesteron yang menurun menyebabkan umpan balik positif terhadap hipotalamus dan

hipofisa anterior untuk mensekresi FSH-RH sehingga stadium diestrus diperpendek (Puspaningtyas, 2007).

Tabel 2. Rerata dan simpangan baku lama satu siklus birahi (hari)

Perlakuan	Lama Siklus Birahi ($\bar{x} \pm SB$)
P1	5,25 ^a $\pm$ 0,29
P2	7,30 ^b $\pm$ 0,51
P3	7,30 ^b $\pm$ 0,54
P4	9,08 ^c $\pm$ 0,30

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada satu kolom menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

P1 = tidak diberi ekstrak daging buah pare hijau

P2 = diberi ekstrak daging buah pare hijau dosis 0,667 mg/g BB

P3 = diberi ekstrak daging buah pare hijau dosis 1,00 mg/g BB

P4 = diberi ekstrak daging buah pare hijau dosis 1,33 mg/g BB

Perubahan fase siklus birahi tersebut akan berpengaruh juga pada lamanya siklus birahi. Data Tabel 2 menunjukkan lamanya siklus birahi bertambah panjang pada perlakuan P2, P3, dan P4. Hal ini disebabkan karena lamanya fase estrus dan diestrus berubah. Perubahan tersebut terlihat dari fase estrus yang menjadi lebih lama dari siklus normal dan fase diestrus yang lebih pendek.

Kesimpulan

Pemberian ekstrak daging buah pare hijau yang dilakukan selama 10 hari dapat mempengaruhi siklus birahi mencit yang disuperovulasi dengan PMSG dan hCG. Pemberian ekstrak daging buah pare hijau berbagai dosis tidak mempengaruhi fase proestrus dan metestrus, tetapi dosis 0,667 mg/g BB, 1,00 mg/g BB, dan 1,33 mg/g BB menyebabkan fase estrus lebih panjang, sedangkan dosis 1,00 mg/g BB dan 1,33 mg/g BB menyebabkan fase diestrus lebih pendek. Pemberian ekstrak daging buah pare hijau menyebabkan lamanya siklus birahi lebih panjang pada dosis 0,667 mg/g BB, 1,00 mg/g BB, dan 1,33 mg/g BB.

Daftar Pustaka

Fitrianti, F. 2001. Hubungan Kadar Estradiol dan Progesteron dengan Panjang Siklus Estrus Tikus Putih (*Rattus sp.*) yang Disuperovulasi [Skripsi]. Fakultas

Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.

Fox, R.R. and Laird, C.W. 1970. Sexual Cycle. In: Hafez, E. S. E. Reproduction and breeding techniques for laboratory animals. Lea & Febiger. Philadelphia. P. 107-122.

Hernawati. 2011. Potensi Buah Pare (*Momordica chantaria*) sebagai Herbal Antifertilitas. FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung.

Ismudiono, Sianto, P., Anwar, H., Madyawati, S.P., Samik, A., dan Safitri E. 2010. Fisiologi Reproduksi Pada Ternak. Airlangga University Press. Surabaya.

Kusriningrum, R.S. 2011. Buku Ajar Perancangan Percobaan. Cetakan ketiga. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penerbit Dani Abadi. Surabaya.

Musahilah, T. 2010. Efek Pemberian Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* Corr.) terhadap Fertilitas Tikus Betina [Tesis]. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Mustofa, I., Mahaputra, L., Dachlan, Y.P., Rantam, F.A., Suwarno, Widjiati, dan Hinting, A. 2006. Antibodi Protein Zona Pelusida-3 Kambing (gZP3) Asal Mencit (*Mus musculus*) Mencegah Fertilisasi *In Vitro* Oosit Mencit Sebagai Hewan Coba. J. Sain Vet. 24(1):43.

Nurliani, A. 2007. Penelusuran Potensi Antifertilitas Kulit Kayu Durian (*Durio zibethinus* Murr) Melalui Skrining Fitokimia. Sains dan Terapan Kimia. 1(2): 53-58.

Puspaningtyas, Y. 2007. Pengaruh Pemberian Perasan Daun Semanggi Air (*Marsiela crenata*) terhadap Siklus Birahi Mencit Betina (*Mus musculus*) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.

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 Kimia. 4(2):114.

Sharanabasappa, A., Vijayakumar, B., dan Saraswati, B.P. 2002. Effect of *Momordica charantia* seed extracts on ovarian and uterine activities in albino rats. J. Pharmaceutical Biology. 40(7):501-507.

- Supriyono, R. 2006. Efek Pemberian Ekstrak Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* Linn) terhadap gambaran histology Ovarium Mencit (*Mus musculus*) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Turner, C.D. and Bagnara, J.T. 1988. Endokrinologi Ovari. Bab 14. Dalam: Endokrinologi Umum. Edisi ke enam. Airlangga University Press. Surabaya. 564-615.

