

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan ilmu kedokteran hewan di Indonesia saat ini mengalami kemajuan dan perkembangan yang cukup pesat dalam beberapa tahun terakhir. Perkembangan dan kondisi ini didasari oleh tingginya minat masyarakat terhadap hewan kesayangan. Tingginya minat masyarakat Indonesia dalam memelihara hewan kesayangan seperti kucing tentunya ikut mempengaruhi tingkat populasi kucing di Indonesia saat ini (Sajuthi et al., 2020). Kucing merupakan salah satu hewan kesayangan yang sangat umum ditemui. Namun, tidak semua individu memelihara hewan ini (Rahmiati et al., 2020).

Masalah populasi pada kucing saat ini menjadi salah satu masalah besar di kalangan masyarakat. Kucing cenderung berkembang biak dengan cepat terlebih jika kucing tersebut hidup secara outdoor. Fenomena ini disebabkan oleh perilaku kucing domestik yang cenderung hidup berkeliaran secara bebas membuat populasinya menjadi tidak terkendali. Hal ini berdasarkan data yang dikemukakan Rizka et al. (2024) di mana data yang dihitung oleh Dinas Ketahanan Pangan, Kelautan dan Perikanan (DKPKP) menyatakan bahwa tiap satu kucing betina dapat melahirkan sekitar 12 anak kucing setiap tahunnya. Adapun berdasarkan data OIE tahun 2018 menyatakan bahwa jumlah dari populasi kucing di Jawa Barat menyentuh angka 8342 ekor kucing.

Kekhawatiran terhadap populasi kucing domestik liar pada suatu daerah telah menjadi isu global yang berpusat pada isu kesejahteraan kucing, dampaknya dari populasi yang tidak terkontrol serta kesejahteraan masyarakat. Menurut perkiraan populasi nasional di Amerika dan Kanada, terdapat sekitar 100 juta kucing yang hidup secara indoor dan terdapat sekitar 10 hingga 120 juta kucing yang hidup secara liar. Pada wilayah perkotaan, muncul perdebatan mengenai pengelolaan kucing yang berfokus pada efektivitas tindakan pengendalian yang bersifat mematikan dan tidak mematikan untuk mengatasi kekhawatiran terhadap kepadatan populasi kucing liar (Flockhart dan Coe, 2018). Kucing liar memiliki wilayah jelajah sejauh 5,1 Ha dengan rata-rata jantan menjelajah sepanjang 70 meter dan betina sepanjang 30 meter. Kucing merupakan hewan dengan *seasonal polyestrus* sehingga pencampuran antara kucing jantan dan betina dalam satu area di masa birahi akan memungkinkan terjadinya kebuntingan yang cukup tinggi. Jika tidak ada upaya kontrol dalam populasi kucing dalam satu tahun, jumlah populasi kucing akan bertambah 18 kali lipat (Rahmiati et al., 2020). Populasi kucing yang tidak terkendali dan terus meningkat ini dapat menjadi permasalahan serius. Pada tahun 2021 terdapat sekitar 1.200 kucing yang tebuang dan banyak di antaranya berada dalam kondisi lapar dan luka (Umairah et al., 2023).

Populasi kucing liar di area perkotaan yang terus meningkat tentunya menimbulkan kekhawatiran bagi masyarakat. Sebanyak 47% masyarakat Indonesia memelihara kucing namun tingkat kepedulian masih cenderung rendah. Sterilisasi massal telah dijadikan sebagai salah satu solusi untuk menekan angka populasi kucing sehingga dapat mengatasi masalah overpopulasi, tetapi masyarakat cenderung melakukan *street feeding* yang berujung memperburuk masalah (Hidayat dan Supriyono,

2024). Kontrasepsi saat ini menjadi salah satu cara untuk mencegah terjadinya kehamilan dan menekan angka populasi. Namun, beberapa riset mengatakan bahwa beberapa penggunaan metode kontrasepsi sintetis dapat menyebabkan efek samping pada kesehatan. Hal ini mendorong penemuan tanaman yang memiliki sifat estrogenik yang cukup kuat sehingga dapat dijadikan sebagai kontrasepsi alami (Adani et al., 2017).

Tanaman anting-anting atau akar kucing (*Acalypha indica* L.) telah menjadi obat herbal dalam kalangan masyarakat. Belum banyak dilakukan penelitian mengenai tanaman ini sebagai tanaman antifertilitas. Namun, ekstrak dari tanaman ini telah terbukti memiliki senyawa dengan golongan triterpenoid, steroid dan flavonoid di dalamnya (Yasmin et al., 2013). Berdasarkan kandungan tersebut, maka memungkinkan bagi tanaman anting-anting atau akar kucing (*Acalypha indica* L.) ini untuk memberikan pengaruh terhadap sistem reproduksi suatu individu hewan. Perubahan pada organ-organ yang terpengaruh oleh senyawa tersebut baik secara anatomis dan histologis perlu diperhatikan lebih lanjut. Dengan demikian, penelitian yang lebih rinci dan berfokus pada organ reproduksi betina khususnya uterus menjadi langkah penting untuk mengetahui pengaruh injeksi ekstrak tanaman anting-anting terhadap perubahan struktur anatomis dan histologis organ reproduksi betina.

Meskipun telah dilakukan beberapa penelitian mengenai kandungan tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.) salah satunya dalam bidang reproduksi sebagaimana penelitian yang dilakukan oleh Eriani et al. (2017) dengan judul “Pengaruh Ekstrak Etanol Tumbuhan Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) terhadap Kebuntingan dan Fetus Mencit (*Mus musculus*)”, namun penelitian tersebut masih berfokus pada parameter kebuntingan dan perkembangan fetus dan hingga saat ini belum ditemukan publikasi atau penelitian yang mengkaji secara khusus mengenai gambaran makroskopis dan mikroskopis organ reproduksi tikus betina yang diberikan ekstrak *Acalypha indica* L. Keterbatasan kajian mengenai perubahan struktur uterus dan ovarium sebagai bentuk respons terhadap pemberian ekstrak tersebut menunjukkan perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut. Oleh karena itu, penelitian mengenai pengaruh ekstrak *Acalypha indica* L. terhadap organ reproduksi tikus betina cukup penting dilakukan sebagai pendekatan awal untuk mengetahui potensi antifertilitas dari ekstrak tersebut. Sejalan dengan tujuan tersebut, penelitian ini diharapkan mampu menunjukkan gambaran makroskopis dan mikroskopis organ uterus serta ovarium dari tikus wistar betina yang diberikan ekstrak tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.) yang ditunjukkan melalui penurunan ukuran organ serta jumlah folikel dan penipisan endometrium sebagai indikasi adanya potensi antifertilitas dari tanaman tersebut.

1.2 Teori Pustaka

1.2.1 Tanaman *Acalypha indica* L.

Tanaman akar kucing atau juga dikenal sebagai tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.) saat mulai banyak diteliti. Tanpa disadari, tanaman ini telah digunakan sebagai obat herba secara turun-temurun di masyarakat. Dineshkumar et al. (2010) mengklaim bahwa tanaman ini berada dalam famili *Euphorbiaceae*. Tanaman ini secara umum banyak ditemui pada area pembuangan atau juga lapangan terbuka di bagian Selatan Nigeria dan Afrika Barat. Tanaman ini juga biasanya banyak di temui di

daerah Asia khususnya area belakang rumah dan menjadi tumbuhan liar khususnya di India.

Tanaman anting-anting atau juga biasa dikenal sebagai akar kucing (*Acalypha indica* L.) telah menjadi salah satu tanaman yang berkhasiat. Tanaman ini telah dimanfaatkan secara herba dalam lingkungan masyarakat untuk pengobatan disentri, malnutrisi, mimisan, muntah darah, hematuria dan malaria (Pambudi et al., 2014). Selain itu, terdapat laporan bahwa tanaman ini berguna dalam pengobatan pneumonia, asma, *rheumatism* dan beberapa penyakit lainnya. Bagian yang dapat digunakan dari tanaman ini biasanya ialah daun, akar, tangkai dan juga bunga. Tanaman ini memiliki panjang 2.5 hingga 75 cm dengan lebar 2-2.5 cm. Bentuk daunnya seperti bulat telur juga belah ketupat dengan ujung berbentuk lancip. Pangkal daunnya juga berbentuk seperti baji. Tangkai daunnya ramping dan lebih panjang dari pisau (Dineshkumar et al., 2010).



Gambar 1. Tanaman *Acalypha indica* L. (Pambudi et al., 2014).

1.2.2 Kandungan dalam *Acalypha indica* L.

Tanaman anting-anting atau akar kucing (*Acalypha indica* L.) telah dikenal menjadi salah satu tanaman herba yang digunakan oleh masyarakat. Telah dilakukan beberapa penelitian mengenai kandungan dari tanaman ini. Eriani et al. (2017) mengklaim tanaman ini dapat menurunkan asam urat, memiliki efek neuroprotector terhadap persambungan *neuromuscular* dan memiliki efek penurunan kadar glukosa darah sehingga tanaman ini dapat menjadi anti-diabetik.

Sebagai tanaman yang memiliki khasiat herba, tanaman anting-anting atau akar kucing (*Acalypha indica* L.) memiliki sejumlah kandungan senyawa kimia yang berguna bagi tubuh. Athandu et al. (2023) mengklaim bahwa tanaman ini memiliki senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, fenolik, tannin, saponin, steroid dan glikosida. Senyawa metabolik sekunder sendiri merupakan senyawa organik yang disintesis oleh tanaman. Selain itu Eriani et al. (2017) juga menyatakan bahwa hasil uji fitokimia dari tanaman ini menunjukkan adanya golongan senyawa triterpenoid, steroid dan flavonoid.

Pambudi et al. (2014) mendeskripsikan bahwa kandungan kering dari tanaman ini mengandung glikosida sianogenik, alkalifin yang merupakan derivat 3-sianopiridon, flavonoid yang berupa glikosida kaemferol dan mauritianin. Adapun juga Wemay et al. (2013) mengklaim bahwa tanaman ini memiliki aktivitas analgesik. Hal ini dibuktikan berdasarkan penelitian Wemay et al. (2013) yang menunjukkan hasil di mana pemberian ekstrak tanaman akar kucing khususnya bagian daun dan akar dapat memperpanjang waktu reaksi tikus terhadap rangsangan panas di mana membutuhkan waktu 3,16 detik pada daun dan 2,85 detik pada bagian akar.

Kandungan berupa senyawa flavonoid, triterpenoid, steroid dan saponin dari tanaman ini telah dibuktikan melalui hasil uji fitokimia. Kandungan tersebut menjadikan tanaman anting-anting atau akar kucing (*Acalypha indica* L.) berpotensi sebagai tanaman afrodizak. Kandungan afrodizak pada hewan jantan sendiri dapat memicu perubahan fisiologis berupa peningkatan libido yang diamati melalui perilaku kawin dari hewan jantan (Yasmin et al., 2013). Selain itu, hormon steroid juga memiliki peran sebagai bahan hormon reproduksi khususnya di hewan betina (Eriani et al., 2017).

1.2.3 Hubungan Kandungan *Acalypha indica* L dengan Reproduksi Betina

Tanaman anting-anting atau akar kucing (*Acalypha indica* L.) memiliki sejumlah kandungan senyawa yang mana salah satunya ialah steroid. Senyawa steroid menjadi salah satu bahan baku dari senyawa kortikosteroid di mana senyawa ini merupakan salah satu hormon reproduksi (Eriani et al., 2017). Steroid sendiri merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang sering digunakan dalam dunia farmasi, contoh hormon steroid ialah estrogen dan progesteron. Hormon estrogen sendiri merupakan hormon seks yang berasal dari steroid dan sering digunakan sebagai kontrasepsi (Rezeki et al., 2023). Hormon estrogen saat ini banyak digunakan dalam keperluan terapi dan kontrasepsi. Hal ini dikarenakan hormon estrogen dapat menstimuli pertumbuhan dan pemeliharaan organ reproduksi betina juga berperan dalam mengatur hormon-hormon gonad lainnya (Afriani et al., 2017). Steroid juga memiliki sifat yang dapat menghambat terjadinya ovulasi (Darmawi, 2017).

Steroid merupakan senyawa turunan triterpenoid. Kegunaannya secara fisiologis ialah sebagai senyawa aktif yang terlibat dalam sistem hormonal seperti hormon adrenal dan hormon seks (estrogen dan progesteron) (Batubara et al., 2017). Progesteron sering dijadikan kontrasepsi di mana ia dapat mengentalkan lendir serviks, menipiskan endometrium, menyebabkan perubahan motilitas silia tuba dan menghambat ovulasi (Astari, 2024). Selain steroid, kandungan flavonoid juga berpengaruh dalam reproduksi betina. Flavonoid dapat mempengaruhi serta menghambat produksi FSH dan LH dari kelenjar hipofisis sehingga sifat asam pada serviks tetap dipertahankan (Huda et al., 2017). Adapun juga senyawa saponin dan triterpenoid dalam tanaman ini dapat mempengaruhi pematangan sel telur (Eriani et al., 2017).

1.2.4 *Acalypha indica* L. sebagai Agen Anti-Fertilitas

Agen anti-fertilitas merupakan segala sesuatu yang dapat mencegah terjadinya ovulasi dan dapat menginduksi terminasi kehamilan. Sampai saat ini telah banyak ditemukan kontrasepsi sintetik yang kegunaannya akan memicu beberapa efek samping.

Tanaman herbal telah digunakan dalam beberapa dekade ini menunjukkan beberapa di antaranya mengandung senyawa yang dapat menjadi agen anti-fertilitas. Tanaman yang memiliki sifat estrogenik atau mengandung unsur senyawa steroid dapat secara langsung mempengaruhi kinerja hipofisis melalui modulasi perifer dari hormon lutealisasi dan hormon perangsang folikel sehingga dapat menurunkan sekresinya dan menghambat terjadinya ovulasi. Senyawa estrogenik memiliki kemampuan dapat meningkatkan berat basah pada uterus dan menginduksi kornifikasi menyebabkan pembukaan vagina pada tikus dewasa dan berakhir menghasilkan efek anti-implantasi (Shaik et al., 2017).

Pada tanaman anting-anting atau akar kucing (*Acalypha indica* L.) didapati adanya senyawa glikosida, saponin, triterpenoid, flavonoid dan steroid. Senyawa steroid dalam suatu tanaman dapat mempengaruhi sistem reproduksi suatu individu. Hal ini dikarenakan senyawa steroid merupakan bahan awal hormon estrogen dan progesterone di mana keduanya berperan penting dalam proses implantasi. Apabila terjadi penurunan estrogen, maka saluran reproduksi dan uterus dapat terpengaruh. Berdasarkan penelitian lainnya tanaman ini terbukti memiliki aktivitas anti-estrogenik sehingga dapat digunakan sebagai anti-fertilitas (Shaik et al., 2017). Bahan aktif berupa triterpenoid, alkaloid, flavonois dan saponin sendiri adalah bahan turunan steroid yang dapat menjadi factor antifertilitas. Bahan ini dapat mengakibatkan gangguan pada jalur hypothalamus dan hipofisis yang dapat mengganggu proses sekresi GnRH yang akhirnya mengakibatkan gangguan pertumbuhan folikel (Satria et al., 2018). Progesterone sendiri telah umum digunakan sebagai kontrasepsi atau anti-fertilitas. Hal ini dikarenakan progesterone dapat mengentalkan lender serviks sehingga sulit untuk ditembus oleh sperma, menipiskan endometrium sehingga dapat terjadi implantasi, perubahan motilitas silia tuba dan menghambat terjadinya ovulasi (Astari, 2024).

Selain itu, aktivitas dari saponin dan triterpenoid dapat mengganggu proses meiosis sel telur yang mengakibatkan gagalnya pematangan sel telur dan gagalnya kebuntingan. Jika merujuk pada penelitian sebelumnya, tanaman anting-anting atau akar kucing (*Acalypha indica* L.) ini dalam dosis tertentu dapat menghambat terjadinya kebuntingan dan bisa menjadi anti-fertilitas alami. Sejalan dengan hal itu, terdapat penelitian yang menyatakan bahwa terjadi penurunan presentase kebuntingan pada mencit yang diinjeksikan ekstrak tanaman anting-anting atau akar kucing (*Acalypha indica* L.). Hal ini terjadi karena terdapat bahan anti-fertilitas yang memiliki struktur yang mirip dengan estrogen yang dapat berikatan dengan reseptor sehingga mengganggu sumbu hipotalamus-hipofisis-ovarium. Saponin sebagai bahan baku sintesis hormon steroid mirip dengan estrogen kontraseptif. Alkaloid mirip dengan saponin yang digunakan sebagai bahan baku sintesis hormon steroid. Begitu pula dengan triterpenoid sehingga ketika ketiganya masuk ke dalam jalur sintesa dan dapat menghasilkan bahan yang strukturnya mirip dengan estrogen dan dialirkan ke organ target bersama dengan hormon yang kemudian menempati sel target. Hal ini mengakibatkan aksi hormon pada sel target akan berkurang dan dapat menjadi agen anti-fertilitas (Erinani et al., 2017).

1.2.5 Tikus Wistar

Hewan coba merupakan instrument penting dalam suatu penelitian khususnya penelitian *in vivo* dalam bidang biomedik. Tikus sering kali dijadikan sebagai hewan coba karena sistem fisiologisnya yang mirip dengan hewan lain. Salah satu contohnya ialah tikus wistar di mana tikus wistar sering kali digunakan sebagai hewan coba (Fitria dan Sarto, 2014). Tikus wistar sering kali digunakan sebagai hewan coba yang disebabkan oleh kestabilan genetiknya yang tetap stabil walau melalui perkawinan silang. Tikus ini memiliki karakteristik dari tikus ini ialah kepalanya sedikit lebar disertai telinga dan leher yang panjang juga ukuran ekornya yang terlihat proporsional (Wati et al., 2014).

Adapun taksonomi dari tikus wistar menurut Wati dan Yurnadi, (2014) ialah:

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Phylum	: <i>Chordata</i>
Subphylum	: <i>Vertebrata</i>
Class	: <i>Mammalia</i>
Subclass	: <i>Theria</i>
Infraclass	: <i>Eutheria</i>
Order	: <i>Rodentia</i>
Suborder	: <i>Mymorpha</i>
Family	: <i>Muridae</i>
Superfamily	: <i>Muroidea</i>
Subfamily	: <i>Murinae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Species	: <i>Rattus norvegicus</i>



Gambar 2. Tikus wistar (Wati dan Yunardi, 2014).

Tikus wistar merupakan tikus albino yang sering digunakan dalam penelitian karena strain genetiknya yang stabil. Tikus ini memiliki karakteristik kepala yang berukuran lebar, telinganya yang panjang serta ekornya panjang dan proporsional dengan tubuhnya. Tikus ini juga memiliki ukuran tubuh yang moderat sehingga memungkinkan untuk tikus laboratorium. Tikus ini memiliki usia reproduksi pada 7-10 minggu dengan berat 100-227 gram (Wati dan Yunardi, 2014). Tikus wistar sensitive terhadap lampu karena tikus ini memiliki retina amelanotic. Selain itu, tikus juga memiliki Tingkat pernapasan serta metabolisme yang cepat namun cenderung kurang peka terhadap alergen di lingkungannya akibat dari tingkat histamin paru yang dilepaskan dan invasi

adregenik dari bronkiolus yang rendah. Di alam liar, tikus dapat hidup dalam koloni besar yang terdiri 100 ekor tikus atau bahkan lebih. Penempatan tikus di laboratorium tentunya harus sesuai dengan lingkungan awalnya untuk mengoptimalkan kesejahteraan hewan. Luas kandang untuk sekelompok yang terdiri dari 5 tikus dengan berat badan 250-300 gram adalah 1.500 cm² dengan ketinggian 22 cm (Susan, 2016).

1.2.6 Uterus Dan Ovarium Tikus Wistar

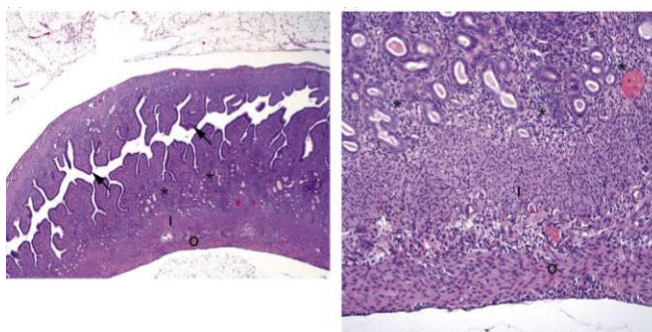
1.2.6.1 Uterus Tikus Wistar

Uterus merupakan salah satu organ reproduksi betina yang berfungsi sebagai penerima dan tempat perkembangan ovum yang telah dibuahi. Uterus pada tikus berupa tabung ganda yang disebut dengan tipe dupleks. Uterus dapat menunjukkan perubahan siklus baik secara struktur maupun fungsinya sebagai bentuk respon atas hormon baik itu progesteron maupun estrogen ovarium. Perubahan yang terjadi ini membuat uterus dapat mempersiapkan implantasi untuk fetus serta embrio. Apa bila implantasi tidak dapat terjadi, maka pembuluh darah pada endometrium akan melemah (Harlita et al., 2015). Tikus betina memiliki sifat ovulasi spontan dengan siklus poliestrus di mana periode estrusnya berkisar 4-5 hari. Usia pubertasnya bervariasi tergantung strain, namun umumnya pada betina akan mengalami pubertas pada usia 37-67 hari (Sirois, 2016). Secara histologis, uterus tikus terbagi menjadi 3 lapisan yaitu endometrium, myometrium dan perimetrium. Pada bagian endometriunya terdapat epitel kolumnar bersilia dan lapisan basal lamina propria. Lamina propria sendiri tersusun oleh jaringan ikat longgar, serabut kolagen, fibroblas dan limfosit di antara jaringan-jaringannya (Harlita et al., 2015).

Endometrium tikus dewasa secara histologis terdiri dari epitel luminal kolumnar sederhana dikelilingi oleh sel stroma yang mengandung kelenjar endometrium yang dibatasi oleh epitel kelenjar kuboid sederhana. Endometrium mengandung kelenjar tetapi tidak mengandung kelenjar yang melingkar rapat dan bercabang. Sekitar endometrium terdapat lapisan otot polos melingkar di area dalam dan memanjang ke luar yang terdiri dari miometrium. Saat lahir, rahim tikus kekurangan kelenjar endometrium dan terdiri dari epitel sederhana yang didukung oleh mesenkim yang tidak berdiferensiasi. Pada periode ini, tiga lapisan mesenkim menjadi terpisah secara jelas menjadi endometrium yang berorientasi radial stroma dan miometrium sirkular bagian dalam (Cooke et al., 2013). Berat uterus sangatlah dipengaruhi oleh ketebalan endometrium serta lender yang dihasilkan oleh kelenjar uterus. Ketebalan endometrium sendiri dipengaruhi oleh hormon reproduksi utamanya hormon estrogen. Namun, tetap saja berat dari uterus tidak terlalu dipengaruhi oleh tebal endometrium dan banyaknya kelenjar uterus karena uterus merupakan organ yang tersusun atas banyak jaringan penyusun (Muchtaromah et al., 2018).

Uterus terbagi menjadi 3 bagian yaitu lapisan terluar (perimetrium), lapisan tengah (myometrium) dan lapisan dalam (endometrium). Lapisan mukosa uterus atau endometrium jika dalam keadaan tidak aktif hanya terdiri dari kelenjar tubular, stroma fibroblastic padat dan pembuluh darah tipis yang biasanya keadaan ini terjadi pada fase anestrus atau sebelum masa pubertas. Setelah menopause pada umur hewan non-produktif maka akan ditemukan endometrium mengalami keadaan tidak aktif sebagai

bukti dari proses proliferasi dan sekresi dengan bentuk yang lebih tipis, sering disertai dengan kista di area sel kuboid serta adanya stroma fibrotik (Titisari et al., 2016).

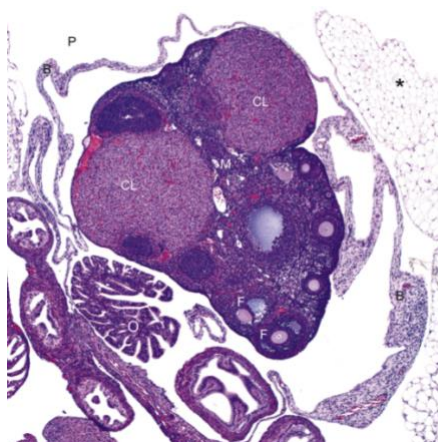


Gambar 3. Histologi normal uterus tikus wistar. Panah hitam (←) menunjukkan kelenjar endometrium; (*) menunjukkan stroma endometrium; (I) menunjukkan lapisan endometrium; (O) menunjukkan lapisan miometrium (Treuting et al., 2018).

1.2.6.2 Ovarium Tikus Wistar

Bursa ovarium tikus normal ditutupi oleh mesothelium pada permukaan dalam dan luar yang terdiri dari pembuluh darah, saraf, dan sedikit serat otot polos. Permukaan luar ovarium tikus ditutupi oleh epitel germinal, yang terdiri dari satu lapisan epitel kuboid hingga kolumnar. Korteks terdiri dari folikel yang sedang berkembang, korpus lutea, stroma pendukung, dan pembuluh darah. Folikel primordial terletak tepat di bawah epitel germinal di tunika albuginea. Folikel primordial terdiri dari sel datar yang mengelilingi ovum bulat bening. Selama pematangan, sel telur dan folikel membesar. Saat sel telur matang, ia dikelilingi oleh stratum granulosum berlapis-lapis yang terdiri dari sel-sel granulosa basofilik kecil (Treuting et al., 2018). Ovarium dibedakan menjadi bagian kortikal dan bagian medular. Korteks jauh lebih padat jika dibandingkan dengan medulla. Tunika albuginea jika belum berkembang dengan baik masih dapat diidentifikasi. Pada ovarium yang anestrus, epitel germinalnya menunjukkan adanya sel-sel kuboid yang tersebar. Sel-sel berbentuk kubus ini selanjutnya akan membentuk oosit dan folikel. Oosit dan folikel ini kemudian bermigrasi menuju daerah yang lebih dalam di ovarium dan sering kali menghasilkan folikel yang berlapis-lapis (Bhoyar, 2020).

Secara umum, tikus mencapai pubertas antara usia 2 dan 3 bulan, dan biasanya tidak dikawinkan hingga usia sekitar 3 bulan. Betina bersifat poliestrus terus menerus, ovulator spontan dengan panjang siklus estrus 4–5 hari (Colby et al., 2020). Pada ovarium, perkembangan ovum dan folikel dipengaruhi oleh produksi FSH. Produksi dari FSH dapat menyebabkan folikel berongga dan dapat menghasilkan estrogen (Rejeki et al., 2017). Estrogen merupakan hormon yang dihasilkan oleh folikel de graaf pada ovarium yang dirangsang oleh hormon FSH. Jika kadar estrogen turun, maka jumlah dari folikel de graaf juga akan berkurang dan begitupun sebaliknya (Ayuningtyas et al., 2012). Ovulasi merupakan proses pelepasan sel telur yang matang dari ovarium. Hal ini merupakan puncak dari peristiwa siklus estrus di mana folikel pecah dan terjadi pelepasan telur (Itodo et al. 2020).



Gambar 4. Histologi normal ovarium tikus wistar. (CL) menunjukkan corpus luteum; (F) menunjukkan folikel ovarium; (O) menunjukkan oviduct; (P) menunjukkan peritoneum; (B) menunjukkan bursa ovary; (M) menunjukkan medulla ovarium; (*) menunjukkan jaringan adiposa (Treuting et al., 2018).

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek dari pemberian antifertilitas ekstrak tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.) terhadap gambaran makroskopis dan mikroskopis organ uterus dan ovarium tikus wistar betina. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan ilmiah dalam memahami juga mengetahui efek dari ekstrak tanaman anting-anting terhadap organ reproduksi tikus wistar betina khususnya dalam bidang anatomi dan histologi. Selain itu, penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat aplikatif yaitu dengan melatih kemampuan meneliti serta dapat menjadi acuan bagi peneliti selanjutnya

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2025 – Maret 2025. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi untuk proses ekstraksi. Selanjutnya, proses pemeliharaan serta perlakuan hewan uji hingga pengambilan sampel dan pemeriksaan secara makroskopis dan mikroskopis organ uterus dan ovarium tikus wistar betina di laksanakan di laboratorium Terpadu Kedokteran Hewan pada awal bulan Februari 2025.

2.2 Materi Penelitian

2.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini ialah alat bedah minor, batang pengaduk, botol minum, *cover glass*, cawan porselin, gelas *beaker* 50 mL, gelas *beaker* 500 mL, gelas *beaker* 1000 mL, *hotplate* (pemanas), kandang tikus, kanula, labu ukur, mikroskop cahaya, mistar, *object glass*, pemanas air, *rotary evaporator*, spoit 1 cc, tabung ukur 50 mL, tempat pakan, timbangan analitik, timbangan digital dan wadah pembusian.

2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah alkohol 70%, 80%, dan 90% (*Onemed*), akuades (*Onemed*), eter (*Indo Reagent*), ekstrak tumbuhan anting-anting (*Acalypha indica* L.), kapas, larutan untuk preparat (hematoksilin–eosin), larutan xylol, masker, pakan standar, paraffin (*Leica*), PGF2 α , sarung tangan lateks (*Onemed*), sekam, *silica gel*, tissue, tikus Wistar betina dengan berat badan $\pm$ 150 gram.

2.3 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan berupa penelitian eksperimental dengan menggunakan pendekatan kuantitatif deskriptif dengan melakukan metode deskriptif untuk melihat adanya perubahan pada bentuk makroskopis dan mikroskopis pada organ ovarium dan uterus dari tikus wistar betina yang diberi ekstrak tanaman anting-anting atau akar kucing (*Acalypha indica* L.)

2.4 Populasi Sampel Penelitian

Penjataan sampel penelitian ini menggunakan metode *Simple Random Sampling* di mana sampel diambil dari populasi tikus wistar. Menurut Intan dan Khariri (2020), jumlah minimum dari penggunaan sampel dapat ditentukan berdasarkan rumus Federer:

$$(t-1) (n-1) > 15$$

Keterangan:

t = Jumlah kelompok

n = Jumlah subjek kelompok

$$\begin{aligned}
 (t-1)(n-1) &\geq 15 \\
 (4-1)(n-1) &\geq 15 \\
 3(n-1) &\geq 15 \\
 n-1 &\geq 15/3 \\
 n-1 &\geq 5 \\
 n &\geq 5 + 1 \\
 n &\geq 6
 \end{aligned}$$

Berdasarkan hasil rumus Federer, maka sampel dalam penelitian berjumlah 24 ekor yang terbagi menjadi 4 kelompok perlakuan, untuk setiap kelompok perlakuan terdiri atas 6 ekor tikus wistar betina.

- a) KLP (-) yang merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan air minum ad libitum selama 14 hari
- b) KLP 1 (Kelompok perlakuan 1) merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan air minum ad libitum selama 14 hari serta diberikan ekstrak tanaman anting anting dengan dosis 800 mg/kgBB/hari secara oral menggunakan sonde.
- c) KLP 2 (Kelompok perlakuan 2) merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan air minum ad libitum selama 14 hari serta diberikan ekstrak tanaman anting-anting dengan dosis 900 mg/kgBB/hari secara oral menggunakan sonde.
- d) KLP 3 (Kelompok perlakuan 3) merupakan kelompok tikus yang diberikan pakan standar dan air minum ad libitum selama 14 hari serta diberikan ekstrak tanaman anting-anting dengan dosis 1000 mg/kgBB/hari secara oral menggunakan sonde.

Adapun prinsip 3R dalam penggunaan hewan laboratorium yang terdiri dari *replacement*, *reduction* dan *refinement*. *Replacement* ialah menggunakan hewan coba sesuai dengan perhitungan baik berdasarkan pengalaman atau literatur terdahulu. *Reduction* ialah pemanfaatan hewan sesedikit mungkin namun tetap dengan hasil yang optimal. *Refinement* ialah memperlakukan hewan coba secara manusiawi dan tidak menyakiti hewan (Intan dan Khariri, 2020). Dengan mempertimbangkan masalah *animal welfare* tersebut, maka digunakan rumus *Resource Equation Method* (RE) di mana rumus ini seringkali digunakan untuk perhitungan jumlah penggunaan hewan laboratorium. Jumlah sampel yang diharapkan dapat digunakan ialah berkisar 10-20 sampel.

$$\begin{aligned}
 \text{RE} &= \text{Jumlah sampel total} - \text{jumlah kelompok} \\
 \text{RE 1} &= 24 - 4 = 20 \\
 \text{RE 2} &= 20 - 4 = 16 \\
 \text{RE 3} &= 20 - 4 = 12
 \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan RE tersebut, jumlah sampel yang dapat diambil dari nilai minimum 10-20 dan dapat dibagi 4 yaitu 12 sehingga jumlah sampel yang digunakan tiap kelompok yaitu 3 ekor pada masing-masing kelompok dengan jumlah keseluruhan tikus yang dipakai adalah 12 ekor.

2.5 Prosedur Penelitian

2.5.1 Persetujuan Etik Penelitian

Penelitian yang dilakukan telah melalui peninjauan Komisi Etik Hewan dan Penelitian Rumah Sakit Hewan Universitas Hasanuddin. Berdasarkan Surat Persetujuan Etik Hewan dan Penelitian Nomor 36/UN4.RSHUH/B/PP36/2025, penelitian yang dilakukan sudah memenuhi persyaratan dan standar kesejahteraan hewan. Dengan itu, penelitian yang dilakukan telah mendapatkan izin juga persetujuan kode etik penelitian dan dapat melanjutkan prosedur penelitian.

2.5.2 Pembuatan ekstrak tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.)

Pembuatan ekstrak didasarkan oleh prosedur pembuatan ekstrak dari penelitian Eriani et al., (2017) di mana tanaman anting-anting (*Acalypha indica* L.) digunakan sebanyak 1 kg. Tanaman anting-anting kemudian dicuci bersih lalu dikeringkan di tempat teduh juga oven dengan suhu 100°. Setelah kering dimasukkan ke dalam mesin blender untuk dihancurkan menjadi serbuk kasar yang kemudian disaring untuk mendapatkan serbuk bersih dan halus (simplisia). Serbuk simplisia yang diperoleh kemudian dimaserasi dengan etanol 96% yang kemudian larutannya disaring di mana proses ini diulang sebanyak 3 kali pengulangan. Filtrat kemudian diuapkan pada suhu 50°C menggunakan *rotary evaporator* hingga akhirnya diperoleh ekstrak etanol tanaman anting-anting. Ekstrak ini kemudian disimpan dalam wadah tertutup dengan silica gel.

2.5.3 Pemeliharaan hewan coba

Penelitian diawali dengan aklimatisasi pada tikus selama 7 hari. Sebelum memulai pemberian ekstrak, tikus betina pada tiap kelompok sampel terlebih dahulu diberikan PGF2 α agar diperoleh siklus estrus yang sinkron dengan status proestrus yang sama di setiap tikus betina dengan volume 0,05 ml dosis tunggal secara intraperitoneal pada pukul 12.00 WITA. Perlakuan pemberian ekstrak kemudian dapat dilakukan sehari setelah pemberian PGF2 α . Pemberian ekstrak dilakukan melalui oral dengan menggunakan alat sonde dengan dosis 800 mg/kg bb, 900 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb selama 14 hari. Kesehatan tikus dipantau tiap hari dan akan ditimbang setiap hari. Tikus ditempatkan dalam kandang secara berkelompok sesuai dengan kelompok percobaan.

2.5.4 Koleksi sampel

Setelah hari ke empat belas pemberian ekstrak, tikus coba dari tiap kelompok diambil kemudian di nekropsi. Proses diawali dengan melakukan anestesi pada tikus coba menggunakan eter melalui jalur inhalasi. Setelah tikus coba telah dipastikan teranestesi, dilakukan eutanasi dengan teknik dislokasi leher kemudian dilanjutkan dengan proses nekropsi. Setelah dinekropsi, organ uterus dan ovarium diambil untuk dilihat apakah ada perubahan secara makroskopis dan mikroskopis dari strukturnya.

2.5.5 Pengamatan makroskopis organ uterus dan ovarium

Setelah dilakukan nekropsi, organ uterus dan ovarium diambil untuk diamati perubahan strukturnya secara makroskopis. Panjang dan lebar uterus juga diukur dengan menggunakan penggaris disertai pengambilan gambar. Hal yang sama juga dilakukan pada organ ovarium. Setelah dilakukan pengukuran menggunakan penggaris, gambar yang diperoleh dimasukkan ke dalam ImaJ untuk dikalibrasi dan diukur hingga dapat diperoleh ukuran dalam satuan milimeter (mm).

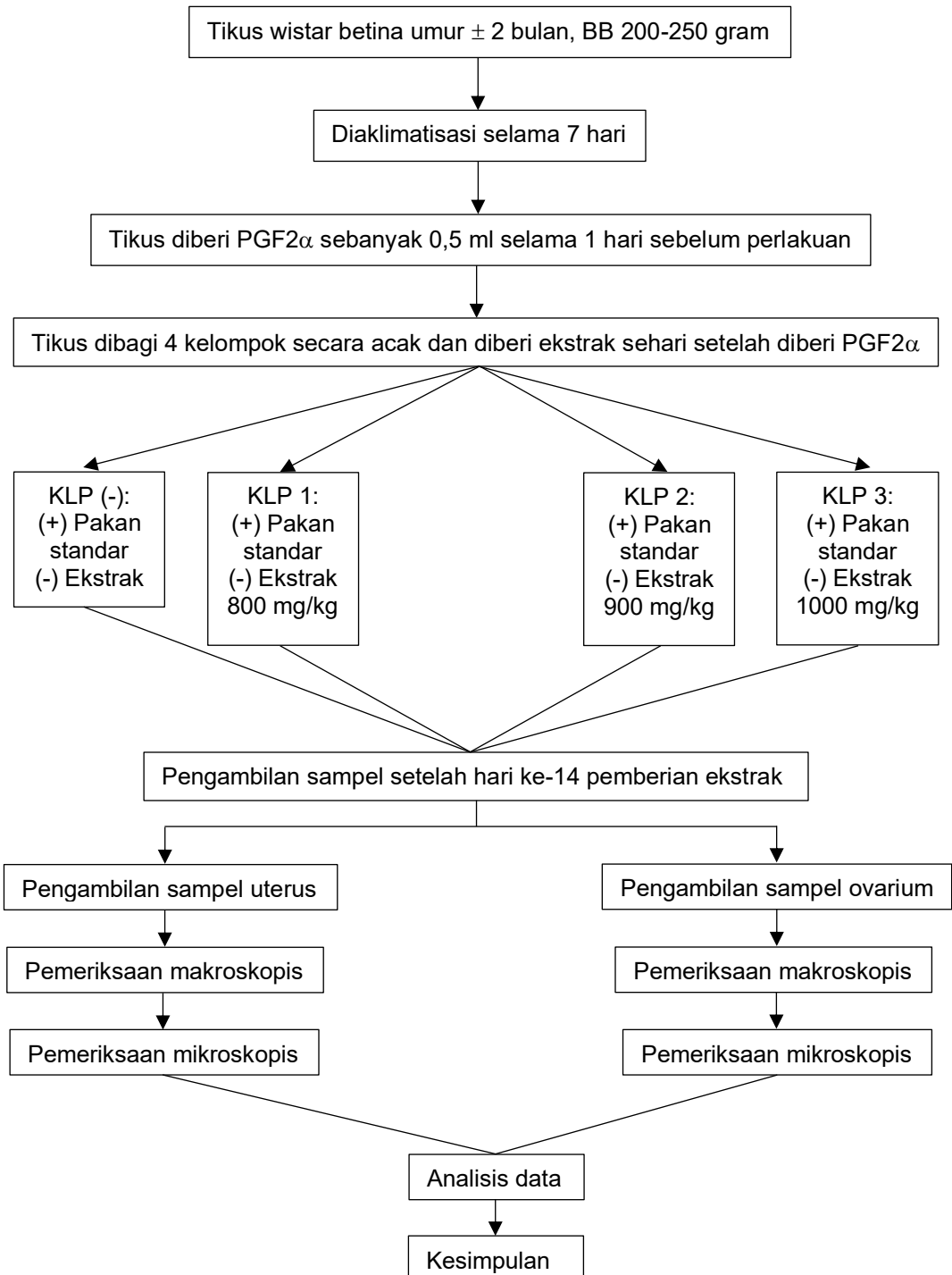
2.5.6 Pembuatan preparat histologi dan pengamatan mikroskopis organ uterus dan ovarium

Preparasi sampel organ uterus dan ovarium diawali dengan melakukan fiksasi menggunakan larutan formalin 10%. Setelah tahap fiksasi, sampel organ kemudian didehidrasi dengan menggunakan alkohol 70%, 80%, dan 90% secara berturut-turut dengan durasi dua jam pada masing-masing konsentrasi alkohol. Preparasi kemudian dilanjutkan dengan tahap *clearing* di mana sampel organ direndam di dalam senyawa *xylene*. Setelah *clearing*, sampel organ kemudian melalui proses *embedding* di mana sampel organ diinfiltrasi menggunakan senyawa paraffin sehingga sampel organ mengeras. Sampel organ kemudian melalui proses *blocking* sehingga sampel organ tercetak menjadi blok paraffin dan disimpan di lemari es selama 24 jam. Blok-blok tersebut kemudian nantinya dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-6 mikron yang kemudian diapungkan di air bersuhu 60°C. Sediaan diangkat menggunakan *object glass* yang kemudian dilanjutkan dengan proses pewarnaan menggunakan pewarnaan Hematoksin-eosin (Setiasih et al., 2019). Pengamatan pada organ uterus dilakukan dengan mengukur ketebalan dari endometrium tiap sampel. Pengamatan pada organ ovarium sendiri dilakukan dengan mengamati dan menghitung jumlah folikel pada tiap kelompok.

2.5.7 Teknik analisis data

Data hasil pengamatan makroskopis berupa bobot, panjang dan lebar organ uterus dan ovarium serta data hasil pengamatan mikroskopis berupa tebal endometrium uterus dan jumlah folikel pada ovarium kemudian dianalisis statistik menggunakan uji *One Way ANOVA*. Apabila hasil uji menunjukkan hasil yang berbeda secara *significant* maka akan dilanjutkan dengan uji *Duncan*. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS (*Statistical Product Of Service Solution*).

2.6 Alur penelitian



Gambar 5. Alur Penelitian