



Aktivitas Antifertilitas Ekstrak Kulit Biji Mete (*Anacardium occidentale* L) Terhadap Kadar Androgen Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Berkenhout 1769

Harlita¹, Dewi Puspitasari², Suwarno³

¹Pendidikan Biologi FKIP UNS, Surakarta, 57126

²Pendidikan Biologi FKIP UNS, Surakarta, 57126

³Pendidikan Biologi FKIP UNS, Surakarta, 57126

Email korespondensi : harlita@staff.uns.ac.id

Abstrak

Indonesia adalah negara yang kaya akan sumber daya alam nabati. Berbagai ekstrak tumbuhan telah digunakan sebagai bahan baku kontrasepsi untuk mengatur laju pertumbuhan penduduk. Mete, terutama kulit biji merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai bahan antifertilitas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antifertilitas ekstrak kulit biji mete sebagai bahan baku kontrasepsi alami terhadap kadar hormon androgen. Penelitian ini menggunakan rancangan *True Experimental Design- Post Test Only Control Group Design*. Perlakuan ada tiga yaitu I. Kontrol (larutan CMCNa 0,5%), II. Ekstrak kulit biji mete dosis 250 mg/kg berat badan dan III. ekstrak kulit biji mete dosis 500 mg/kg berat badan. Pemberian ekstrak secara oral selama 45 hari pada tikus betina (*Rattus norvegicus*) galur Wistar umur 6 minggu. Kadar hormon androgen diukur pada ovarium dan serum dengan metode *Enzym-Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA). Data dianalisis secara kualitatif dengan analisis varians. Hasil penelitian didapat pemberian ekstrak kulit biji mete menyebabkan penurunan kadar hormon androgen pada ovarium dan serum. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata kadar hormon androgen antara kontrol dan perlakuan.

Kata kunci: kulit biji mete, antifertilitas, androgen, tikus putih

Pendahuluan

Salah satu cara mencegah, kehamilan adalah menggunakan kontrasepsi yang bersifat sementara maupun permanen/sintetik. Kontrasepsi sintetik mempunyai efek samping bagi pemakainya antara lain kegemukan, pendarahan, siklus haid terganggu, sehingga dicari bahan kontrasepsi alami yang berasal dari tumbuhan. Berbagai tumbuhan dan ekstrak tumbuhan dapat digunakan sebagai agen antifertilitas tanpa menimbulkan efek samping. Antifertilitas adalah kemampuan untuk mengurangi fertilitas dan bersifat kontraseptif.

Tanaman Mete (*Anacardium occidentale* L.) adalah tanaman yang berasal dari Brazil, merupakan golongan dikotil (Dalimartha, 2000). Mete adalah tanaman perkebunan yang menghasilkan produk kacang mete untuk komoditi ekspor. Selain untuk menambah devisa negara, limbah kulit biji yang berasal dari mete akan menyisakan masalah bila tidak digunakan secara efisien.

Ekstrak kulit biji mete mengandung senyawa fenolik berupa minyak laka atau *cashew nut shell liquid* (CNSL) dari berbagai penelitian yang dilakukan. Hasil isolasi, CNSL mengandung asam anakardat (70%-90%), kardol (15%-25%), sisanya kardanol dan 2-metil kardol (Sullivan *et al.*, 1982; Simpen, 2008). Penelitian potensi asam anakardat telah banyak dilakukan, antara lain asam anakardat dan kardol sebagai antibakteri khususnya bakteri gram positif (Kubo *et al.*, 1993), antikanker (Kubo *et al.*, 2005; Schultz *et al.*, 2010), antitumor (Mothe *et al.*, 2008), antifungi (Kannan *et al.*, 2009), anticacing (Aiswarya *et al.*, 2011), dan menghambat aktivitas berbagai enzim (Zhuang *et al.*, 2010).

Penelitian Harlita (2004) ekstrak kulit biji mete menyebabkan kerusakan pada ovarium keong mas betina (*Pomacea* sp) dan mencegah terjadi peneluran. Prasad *et al.* (2007) meneliti pada tikus pemberian AAMEO (*anacardic acid methyl ester in presence of oil*) mempunyai aktifitas

antiimplantasi 81,3% sedang AAMEE (*anacardic acid methyl ester in presence of ethanol*) mempunyai aktifitas antiimplantasi 37% dan antifertilitas 20%. Ekstrak ini berpengaruh terhadap ketebalan endometrium dan struktur uterus tikus albino (Harlita dkk, 2012). Ekstrak kulit biji mete mempengaruhi struktur testis dan kadar hormon testosteron tikus wistar jantan (Herlina, 2013).

Testosteron dan androstenedion merupakan hormon androgen utama, berperan pada folikulogenesis dan oogenesis (Bennet *et al.*, 2010). Testosteron dan androstenedion berfungsi untuk meningkatkan jumlah sel-sel granulosa piknotik dan mendegenerasi oosit yang tidak dibuahi (Prizant *et al.*, 2014). Penelitian Shiina *et al.* (2006) aktivitas androgen pada sel granulosa berperan mengatur perkembangan folikel dari tahap preantral ke tahap antral. Jika pada sel granulosa androgen reseptor tidak ada menyebabkan folikel preantral menjadi atretik dan tidak mampu berkembang menjadi folikel yang dapat berovulasi. Selain itu, androgen juga mempengaruhi pematangan folikel preantral dan folikel antral muda (Gleicher *et al.*, 2011). Tujuan penelitian untuk menganalisis aktivitas antifertilitas ekstrak kulit biji mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap hormon androgen tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Metode Penelitian

Bahan

Kulit biji mete, diperoleh dari Wonogiri Jawa Tengah. Tikus putih galur Wistar berumur 6 minggu dengan berat 100-150 gram sebagai hewan uji. Analisis hormon dengan metode ELISA membutuhkan Kit androgen Qayeebio (QY-E-10995). Sodium Carboxyl Methyl Cellulose (CMCNa) 0,5% digunakan sebagai pelarut ekstrak.

Alat

Kandang *stainless still* untuk tempat pemeliharaan hewan uji, pencekokan ekstrak menggunakan jarum sonde, sentrifus, tabung mikro dan *ELISA reader* untuk membaca hasil analisis data dengan metoda ELISA.

Tempat Penelitian

Ekstrak uji dibuat di Laboratorim Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Unit I UGM. Penelitian dilakukan di laboratorium Struktur Hewan P.Biologi FKIP UNS.

Metode

Penelitian menggunakan metode *True Experimental Design- Post Test Only Control Group Design*. Analisis varians (Anava) digunakan untuk mengukur kadar hormon androgen secara kuantitatif. Ada tiga perlakuan yaitu 1. Kontrol (larutan CMCNa 0,5%) 2. pemberian ekstrak dosis 250 mg/kg berat badan (bb), dan 3. pemberian ekstrak dosis 500 mg/kg bb. Setiap perlakuan menggunakan 10 ekor tikus betina. Ekstrak diberikan secara oral selama 45 hari (sembilan siklus estrus). Siklus estrus diamati dengan membuat preparat apus vagina menggunakan pewarna giemsa. Darah untuk mengukur kadar hormon androgen, diambil dari sinus orbitalis saat estrus pada siklus estrus ke-0, siklus estrus ke-5 dan ke-9. Hal yang sama berlaku untuk perlakuan dan kontrol. Plasma dan serum darah dipisah dengan sentrifus, sehingga didapat serum yang akan digunakan dalam perlakuan. Pada akhir siklus, ovarium diambil untuk mengukur kadar hormon androgen. Serum darah dan ovarium dianalisis dengan metode ELISA dengan menggunakan kit androgen Qayeebio (QY-E-10995).

Hasil Penelitian dan Pembahasan

Kadar hormon androgen diukur pada serum dan ovarium. Kadar hormon androgen serum diukur pada siklus estrus ke-0, ke-5 dan ke-9. Pada siklus estrus k-9 dilakukan pengukuran kadar hormon androgen ovarium.

1. Kadar hormon androgen serum

Rata-rata kadar hormon androgen serum untuk kontrol dan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata kadar hormon androgen serum tikus kontrol dan perlakuan

Perlakuan	Kadar hormon androgen (ng/ml) pada siklus estrus ke-		
	0	5	9
Kontrol	57,24 ± 1,08 ^a	61,76 ± 1,21 ^a	63,03 ± 1,50 ^a
250 mg/kg bb	57,26 ± 0,69 ^a	59,63 ± 1,47 ^a	62,20 ± 1,05 ^a
500 mg/kg bb	58,25 ± 1,03 ^a	59,03 ± 0,78 ^a	61,98 ± 1,48 ^a

Keterangan: dalam setiap kolom, angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata ($p=0,05$)

Hasil analisis deskriptif kadar hormon androgen menunjukkan terjadi kenaikan kadar hormon androgen serum untuk setiap siklus estrus pada kontrol dan perlakuan. Kenaikan kadar hormon androgen pada perlakuan masih di bawah kadar pada kontrol, dan kenaikan ini tidak signifikan ($p>0,05$).

2. Kadar hormon androgen ovarium

Pada perlakuan terjadi penurunan kadar hormon androgen ovarium, tetapi tidak terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata kadar hormon androgen ovarium antara kontrol dan perlakuan setelah dianalisis menggunakan analisis sidik ragam. Rata-rata kadar hormon androgen ovarium untuk kontrol dan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata kadar hormon androgen ovarium tikus kontrol dan perlakuan

Perlakuan	Kadar hormon androgen (ng/ml) pada siklus estrus ke-9
	70,98 ± 1,34 ^a
	70,92 ± 1,03 ^a
	69,97 ± 1,31 ^a

Keterangan: huruf yang sama dalam setiap kelompok menunjukkan tidak signifikan ($p=0,05$).

Pada perlakuan terjadi penurunan kadar hormon androgen jika dibandingkan dengan kontrol yaitu berturut-turut sebesar 0,06 ng/ml dan 1,01 ng/ml. Hasil analisis variansi tidak terdapat perbedaan signifikan ($p>0,05$) antara perlakuan dan kontrol.

Pemberian ekstrak kulit biji mete pada tikus perlakuan tidak mempengaruhi kadar hormon androgen yang dihasilkan, sehingga pada perlakuan masih ditemukan folikel pada tahap folikel tersier walaupun jumlahnya sedikit jika dibandingkan dengan kontrol. Hal ini sesuai dengan pendapat Wang *et al.* (2001) androgen berperan dalam proliferasi sel granulosa preantral, interaksi antara faktor yang disekresi oosit dan androgen memengaruhi perkembangan folikel. Penelitian Gervasio *et al.* (2014) bahwa pemberian anti androgen dapat menurunkan produksi estradiol dan mengurangi perkembangan folikel. Jika kadar hormon androgen dan FSH mencukupi maka folikel dapat berkembang dengan baik.

Tidak ada pengaruh signifikan perlakuan terhadap kadar hormon androgen pada penelitian ini, sehingga kadar hormon androgen yang dihasilkan tidak berkurang. Penelitian lain tentang peran hormon androgen dalam perkembangan folikel telah dilakukan. Pemberian hormon androgen pada tikus dapat meningkatkan perkembangan folikel preantral dan meningkatkan ovulasi dengan meniadakan proliferasi sel granulosa dan menurunkan jumlah folikel atretik (Prizant *et al.*, 2014). Folikel atretik terbentuk apabila sel telur gagal mengalami ovulasi dan akhirnya terdegradasi. Selain itu, penelitian *in vitro* pada seluruh tikus percobaan menunjukkan bahwa androgen dapat meningkatkan diameter folikel dewasa dan meningkatkan perkembangan folikel preantral secara signifikan. Pada penelitian lain juga dinyatakan bahwa pada sel granulosa aktivitas androgen mengatur perkembangan folikel dari tahap preantral ke tahap antral. Absennya peran androgen reseptor di sel granulosa menyebabkan folikel preantral menjadi atretik dan tidak dapat berkembang menjadi folikel yang mampu berovulasi (Shiina *et al.*, 2006).

Simpulan

Ekstrak kulit biji mete menyebabkan penurunan kadar hormon androgen tetapi tidak berpengaruh secara signifikan, kesimpulan penelitian tentang Aktivitas Antifertilitas Ekstrak Kulit Biji Mete (*Anacardium occidentale* L) Terhadap Kadar Hormon Androgen Tikus Putih (*Rattus norvegicus*).

Daftar Pustaka

- Aiswarya, G., K.H. Reza, Radhika G., and Rahul V. Sidhaye. 2011. Study for Antihelminthic Activity of Cashew Apple (*Anacardium occidentale*) Extract. *Inter. J. of Pharm. Sci. Review and Research*, Jan-Feb 2012, Vol. 6, Issue 1: 44-47.
- Bennett, J., Richards, C., Mullen, K., and Stocco, C. 2010. Androgens stimulate aromatase and P450scc in primary rat granulosa cells independently of Follicle Stimulating Hormone. *Poster 637*.
- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 2. Trubus Agriwidya, Jakarta, 42-43 p.
- Gervasio, G.C., Bernuci, M.P., Silva-de-Sa, M.F., and de Sa Rosa-e-Silva, A.C.J. 2014. *Obstetrics and Gynecology: The Role of Androgen Hormones in Early Follicular Development*. Hindawi Pub. Co, New York.
- Gleicher, N., Weghofer, A, Barad, D. 2011. The role of androgens in follicle maturation and ovulation induction: friend or foe of infertility treatment?. *Reprod Biol and Endocr.* 9 (116): 1-12.
- Harlita. 2004. Serbuk Kulit Biji Mete (*Anacardium occidentale* L) Sebagai Moluskisida Untuk Menghambat Reproduksi Keong Mas (*Pomacea* sp), *Biosmart* VolII No. 6, (April 2004)
- Harlita, Riezky Maya P. dan Umi Fatmawati. 2012. Hubungan Kadar Hormon Estradiol dengan Tebal Endometrium Tikus Albino: Aktifitas Rodentisida Ekstrak Kulit Biji Mete (*Anacardium occidentale* L), Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas, UNS.
- Herlina. 2013. Potensi Biotoksikan Ekstrak Etanolik Kulit Biji Mete (*Anacardium occidentale* L) Pada Sistem Reproduksi jantan Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Berkenhout 1769) Galur Wistar. *Tesis*. UGM. Yogyakarta
- Kannan, V.R., Sumathi, C.S., Balasubramanian, V., and Ramesh, N. 2009. Elementary chemical profiling and antifungal properties of cashew (*Anacardium occidentale* L.) nuts. *Botany Research Int.* 2 (4): 53-257.
- Kubo, Isao, H. Muroi, and M. Himejima. 1993. Structure-Antibacterial Activity Relationship of Anacardic Acids. *J Agric Food Chem.* 41: 1016-1019.
- Kubo, Isao, Masuoka Noriyoshi, Ha Tae Joung, and Tsujimoto Kazuo. 2005. Antioxidant Activity of Anacardic Acids. *Food Chemistry*, 99 : 555-562.
- Mothe, C.G., De Souza, I.A. and Calazans, G.M.T. 2008. Antitumor activity of cashew gum from *Anacardium occidentale* L. *Agrofood industry hi-tech*. Vol 19, 6: 50-52.
- Prasad, Funde E. , Shirish ,Pingale S. , Raghunath ,Pokharkar D., Samir, Shaikh S. 2007. *In Vivo* Anti-Fertility and Anti-Implantation Activity of Anacardic Acid Methyl Ester in Rats. *Pharmacologyonline* 3.
- Prizant, H., Gleicher, N., and Sen, A. 2014. Androgen actions in the ovary: balance is key. *J of Endocr.* 222 (3): 141-151.
- Schultz, D.J., Wickramasinghe, N.S., Ivanova, M.M., Isaacs, I.M., Dougherty, S.M., Cunningham, A.R., Chen, C. and Klinge, C.M. 2010. Anacardic Acid Inhibits Estrogen Receptor α -DNA Binding and Reduces Target Gene Transcription and Breast Cancer Cell Proliferation. *Mol Cancer Ther.* March 9, 2013. 9: 594-605.
- Simpson, I.N. 2008. Isolasi *Cashew Nut Shell Liquid* dari kulit biji mete (*Anacardium occidentale* L) dan kajian beberapa sifat fisiko kimianya. *Jurnal Kimia.* 2: 2.
- Shiina, H., Matsumoto, T., Sato, T., Igarashi, K., Miyamoto, J., Takemasa, S., and Chambon, P. 2006. Premature ovarian failure in androgen receptor-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 103, 1: 224-229.
- Wang, P.H. 2005. Role sex hormone receptors in ovulation. *Taiwanese J. Obstet Gynecol.* 44 (1) : 16-25.
- Zhuang, Jiang-Xing, Yong-Hua Hu, Mei-Hua Yang, Feng-Jiao Liu, Ling Qiu, Xing-Wang Zhou, and Qing-Xi Chen. 2010. Irreversible Competitive Inhibitory Kinetics of Cardol Triene on Mushroom Tyrosinase. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58: 12993-12998