



LAPORAN PENELITIAN

Penyusun:

**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN DAN
PENDIDIKAN PROFESI BIDAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA**

LAPORAN PENELITIAN



EFFECT OF CHITOSAN ON THE REPRODUCTIVE SYSTEM OF FEMALE RATS (RATTUS NORVEGICUS) EXPOSED TO LEAD ACETATE

TIM PENGUSUL

Annisa' Wigati R., S.Keb.Bd., M.Keb

0715029202

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA

TAHUN 2019-2020

IHALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : *Effect chitosan on the reproductive system of female rats rattus Norvegicus) Exposed t acetate*

Skema :

Jumlah Dana : Rp. 15.500.000,-

Ketua Peneliti

Nama Lengkap : Annisa' W. R, S.Keb., Bd., M.Keb

a. NIDN : 0715029202

b. Jabatan Fungsional : Tenaga Pendidik

c. Program Studi : SI Kebidanan dan Pendidikan Profesi Bidan

d. Nomor Hp : 085724372252

e. Alamat email : anisa.15wigati@gmail.com

Anggota Mahasiswa (1)

a. Nama Lengkap : Hafidatillah Altamirano

b. NIM : 20191664032

c. Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Surabaya

Anggota Mahasiswa (2)

a. Nama Lengkap : Anik Zuraydah

b. NIM : 20191664033

c. Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Surabaya

Surabaya, 9 Desember 2019

Mengetahui,
Dekan FIK UMSurabaya


Dr. Mundakir, S.Kep., Ns., M.Kep
NIDN. 0023037401

Ketua Peneliti


Annisa' Wigati R., S.Keb.Bd., M.Keb
NIDN 0715029202

Menyetujui,
Ketua LPPM UMSurabaya


Dr. Dra. Sunnah, M.Pd
NIDN 0730016501

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas rahmat dan hidayah Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis ini yang berjudul “Effect of Chitosan on the Reproductive System of Female Rats (*Rattus Norvegicus*) Exposed to Lead Acetate” sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan tugas Tri Dharma Perguruan Tinggi.

Dengan segala kerendahan hati, penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat :

1. Dr. dr. Sukadiono, M.M, selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Surabaya yang telah memberikan persetujuan dan fasilitas kegiatan pengabdian melalui LPPM yang terus semakin berkembang
2. Dr. Mundakir, S.Kep.,Ns., M.Kes., selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya yang telah memberikan persetujuan dalam pengabdian ini
3. Semua Pihak yang terlibat dalam penelitian

Semoga penelitian ini memberikan manfaat kepada semua pihak.

Surabaya, Desember 2019
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DEPAN.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	v
INTISARI	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT	26
BAB IV METODE PENELITIAN	27
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	34
KESIMPULAN.....	49
DAFTAR PUSTAKA	

ABSTRACT

Context: Lead exposure can have a harmful effect on the body, one of which is the reproduction system. Lead can increase oxidative stress that can cause damage to organ. This research aims to prove the effect of chitosan in reducing MDA levels and increasing 17β estradiol level and VEGF expression due to lead exposure. This study was a true experimental in vivo study using a post-test only group control design. This study used female wistar strain rats as the experimental animals that were divided into a negative control group, a positive control group (dose of lead 175 mg/kg/BW) and treatment groups (dose of chitosan 16, 32, and 64 mg/kg/BW) for 30 days. Surgery was carried out during the proestrus phase. The MDA level was measured using a microplate reader, 17β Estradiol level using ELISA, and the VEGF expression using IHC. This study used One Way ANOVA test and LSD test. The dose of chitosan that was considered capable of reducing uterine MDA level was treatment group 2 (dose of 32 mg/Kg/BW). Administration of chitosan at dose 3 (dose of 64 mg/Kg/BW) was able to increase Estradiol 17β levels and VEGF expression optimally. Chitosan can quantitatively reduce MDA level and increase 17β estradiol. In addition, chitosan administration can significantly increase VEGF expression. Keywords: Reproduction, Lead, chitosan, Malondialdehyde, 17β Estradiol, VEGF

ABSTRAK

Tujuan: Sindrom ovarium polikistik (PCOS) adalah gangguan endokrin dengan patofisiologi yang masih belum diketahui. Resistensi insulin adalah salah satu faktor utama yang mempengaruhi patogenesis PCOS (69%). Teh hijau memiliki senyawa yang dapat digunakan untuk memperbaiki kondisi resistensi insulin, sehingga folikulogenesis dapat kambuh dalam kasus PCOS.

Bahan dan Metode: Subjek dalam penelitian ini adalah tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok, terdiri dari 2 kelompok yang berfungsi sebagai kelompok kontrol (negatif dan positif) dan 3 kelompok sebagai kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari 7 hewan percobaan. Kelompok kontrol negatif diberikan dengan air suling selama 14 hari. Kelompok kontrol positif diberikan dengan suntikan testosteron propionat 1 mg/100 g BW intramuskuler di paha selama 28 hari untuk mendapatkan model PCOS resisten insulin dan air suling digunakan sebagai terapi. Kelompok pengobatan diberikan with suntikan testosteron propionat 1 mg/100gBW intra-otot untuk 28 hari-hari dan kemudian diobati dengan ekstrak teh hijau dalam dosis masing-masing 200 mg/kg, 400 mg/kg, dan 800 mg/kg untuk 14 hari-hari. Tikus dibedah pada hari ke-42 untuk memanen ovarium kanan dan kiri dan sampel darah jantung diambil untuk memeriksa kadar insulin.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak teh hijau pada K5 dapat menurunkan kadar insulin dan meningkatkan folikulogenesis secara signifikan (signifikansi $p < 0,05$).

Kesimpulan: Ekstrak teh hijau dapat mengurangi kadar insulin dan meningkatkan folikulogenesis pada tikus. PCOS - Resistensi insulin dengan dosis 800 mg/kg.

Kata kunci: teh hijau; kadar insulin; folikulogenesis; sindrom ovarium polikistik

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kejadian perempuan infertil di Indonesia 15% pada usia 30-34 tahun, meningkat 30% pada usia 35-39 tahun, dan 55% pada usia 40-44 tahun. Hasil survei gagalnya kehamilan pada pasangan yang sudah menikah selama 12 bulan, 40% disebabkan infertilitas pada pria, 40% karena infertilitas pada wanita, dan 10% dari pria dan wanita, 10% tidak diketahui penyebabnya (Sari, 2013). Salah satu kasus infertil yang banyak terjadi pada kelompok usia wanita subur adalah *Polycystic Ovarium Syndrome (PCOS)* atau Sindroma Ovarium Polikistik (SOPK) (Rahayu, 2013). Sindroma ovarium polikistik merupakan gangguan endokrin paling umum yang terjadi pada wanita, yaitu 6-10% berdasarkan pada kriteria *US National Institutes of Health (NIH)* (Fauser, 2012).

Sindroma ovarium polikistik (SOPK) merupakan masalah endokrinologi reproduktif yang sering terjadi dan sampai saat ini masih menjadi kontroversi. Gejala klinisnya bervariasi tetapi biasanya meliputi oligo-ovulasi atau anovulasi, hiperandrogenisme (baik klinis atau biokimia), dan adanya ovarium polikistik. SOPK bukan hanya penyebab tersering kejadian gangguan ovulasi dan hirsutisme namun juga berhubungan dengan gangguan metabolisme yang memiliki pengaruh penting dalam kesehatan wanita (Hadibroto, 2005; Fauser, 2012).

Etiologi dan patogenesis secara pasti dari kelainan ini belum pasti, namun pada beberapa penelitian selanjutnya disepakati kelainan ini dipengaruhi secara genetik melalui *autosomal dominant mode of inheritance* (terutama dari paternal origin) (Rusnasari, 2005). Patogenesis SOPK meliputi sekresi gonadotropin yang abnormal, steroidogenesis yang abnormal, resistensi insulin, disregulasi *p450 c 17*, dan genetik (Rusnasari, 2005). Resistensi insulin merupakan salah satu yang terbesar dalam mempengaruhi patogenesis SOPK (69%) (Rahayu, 2013).

Resistensi insulin didefinisikan sebagai ketidakmampuan tubuh untuk beradaptasi dengan asupan normal glukosa atau ketidakmampuan insulin menghasilkan efek fisiologis metabolik yang memadai bagi tubuh. Hal ini mengakibatkan kebutuhan insulin tubuh meningkat sehingga hiperinsulinemia untuk mempertahankan kadar glukosa plasma agar tetap dalam batas normal (Djuwantono, 2010; Kusumastuty, 2010). Insulin setara dengan *Insulin-Like Growth Factor (IGF)*. Insulin dan IGF-1

bertanggung jawab mengganggu ovulasi. Insulin bekerja secara langsung baik sendiri maupun bersama dengan LH dalam meningkatkan produksi androgen di ovarium. Insulin secara tidak langsung juga dapat meningkatkan kadar androgen dengan menurunkan produksi SHBG (*Sex Hormone Binding Globulin*) di hati dan IGFBP-1 (*Insulin Like Growth Factor Binding Protein-1*) dan dengan demikian meningkatkan testosteron bebas dan level IGF-I, IGF-II.

Androgen berlebih ini mengganggu folikulogenesis sehingga mengakibatkan gangguan menstruasi, pengembangan beberapa kista di ovarium. Androgen menyebabkan resistensi insulin dengan menurunkan jumlah dan efektifitas protein pengangkut glukosa, khususnya *glucose transporter type 4* (GLUT-4) yang bertanggung jawab terhadap pengangkutan glukosa di otot dan lemak (Marshall, 1999; Mukherjee, 2010).

Terapi herbal menjadi salah satu isu pengobatan alternatif yang sedang berkembang di masyarakat luas. Salah satu tanaman yang digunakan pada kedokteran tradisional adalah teh hijau. Teh merupakan salah satu minuman yang paling populer dikonsumsi dua pertiga populasi di dunia. Praktisi kesehatan menggunakan teh hijau sebagai stimulan, diuretik, astringent, dan meningkatkan kesehatan jantung. Pengobatan tradisional lainnya menggunakan teh hijau untuk mengobati perut kembung, mengatur suhu tubuh dan menurunkan kadar gula darah, membantu pencernaan dan meningkatkan proses berpikir (Velayutham, 2008).

Kandungan terbesar dalam pucuk daun teh hijau adalah katekin atau *Epigallocatechin-3-Gallate* (EGCG) yang merupakan senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6 (Widyaningrum, 2013). Konsumsi *Epigallocatechin Gallate* (EGCG) teh hijau dilaporkan banyak bermanfaat pada upaya peningkatan kesehatan, seperti pembakaran lemak, mencegah obesitas dan sensitifitas insulin. Teh hijau (*Camelia sinensis*) dapat dikembangkan sebagai agen terapeutik potensial untuk obesitas dan resistensi insulin. Kerja EGCG diharapkan dapat menghambat resistensi insulin dengan menghambat penurunan PI3K dan menghambat peningkatan MAPK sehingga terjadi peningkatan translokasi GLUT-4 (Mawarti, 2012; Kusumastuty, 2010).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Haidari, dkk (2013) yang bertujuan mengevaluasi efek ekstrak teh hijau pada level glukosa serum menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau dengan dosis 200 mg/kgBB secara signifikan mampu menurunkan level glukosa serum. Pemberian teh hijau diharapkan dapat menurunkan kadar insulin

dalam darah sehingga diikuti dengan penurunan androgen. Penurunan kadar androgen membuat proses aromatisasi dari hormon androgen menjadi estrogen sehingga folikulogenesis (jumlah folikel primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) dapat terjadi kembali.

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Apakah ada perbedaan kadar insulin tikus model SOPK – resistensi insulin antara kelompok yang diberi perlakuan ekstrak teh hijau dengan kelompok kontrol?
- 2) Apakah ada perbedaan folikulogenesis (primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) tikus model SOPK – resistensi insulin antara kelompok yang diberi perlakuan ekstrak teh hijau dengan kelompok kontrol?

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sindroma Ovarium Polikistik

Sindroma ovarium polikistik merupakan kelainan endokrin yang sangat umum terjadi pada masa reproduksi wanita dengan prevalensi antara 6%-10% berdasarkan pada kriteria *US National Institutes of Health* (NIH) dan sebesar 15% dari kriteria Rotterdam (Fauser, 2012). Pada tahun 1935 sarjana *Irving Stein* dan *Michael Levental* pertama kali menemukan suatu gejala kompleks yang berhubungan dengan anovulasi yang kemudian dikenal sebagai *Syndrome Stein Levental* atau Sindroma Ovarium Polikistik (SOPK) (Santoso, 2009; Rusnasari, 2005).

2.1.1 Patofisiologi

SOPK adalah kelainan endokrin, patofisiologinya masih belum diketahui secara jelas. Kontributor genetik dan lingkungan terhadap gangguan hormonal bergabung dengan kontributor lain seperti obesitas, disfungsi ovarium, dan abnormalitas hipofisis berkontribusi terhadap etiologi SOPK. Hiperandrogenisme adalah kontributor kuat terhadap etiologi SOPK (dideteksi pada sekitar 60%-80% kasus). Resistensi insulin juga merupakan kontributor SOPK dan terdeteksi sekitar 50%-80% pada wanita dengan SOPK, terutama pada pasien SOPK yang memiliki tingkat keparahan lebih tinggi dan obesitas.

Wanita yang kurus dan wanita dengan SOPK derajat lebih ringan tampaknya mengalami resistensi insulin dan hiperinsulinemia yang tidak berat. Resistensi insulin berkontribusi terhadap gambaran metabolik tetapi juga terhadap gambaran reproduksi melalui hiperandrogen, hirsutisme, infertilitas, dan komplikasi kehamilan. Obesitas juga memperburuk faktor peningkatan risiko SOPK terkait gangguan toleransi glukosa, DM2 dan CVD, sedangkan obesitas juga mempengaruhi gambaran psikologis SOPK (Gambar 2.1) (Valkenburg, 2008; Teede, 2011; Ginting, 2013).

Kelainan utama yang terlibat dalam patofisiologi SOPK (Homburg, 2003), yaitu:

1) Produksi androgen ovarium yang berlebihan

Produksi androgen ovarium yang berlebihan adalah penyebab utama dari SOPK, hampir semua mekanisme enzimatik pada SOPK yang merangsang produksi androgen meningkat. Peningkatan insulin dan LH, baik secara sendirian ataupun kombinasi akan meningkatkan produksi androgen. Abnormalitas steroidogenik adrenal umum didapatkan pada wanita dengan hiperandrogen termasuk pada SOPK. Walaupun pasien dengan SOPK terutama menunjukkan peningkatan produksi androgen dari ovarium,

peningkatan kadar androgen adrenal terutama *dehydroepiandrosterone sulfat* (DHEAS) terdapat pada 20-30% pasien SOPK. Androgen adrenal mempunyai kontribusi pada phenotype SOPK, yaitu hirsutisme. Secara keseluruhan penyebab dari peningkatan kadar androgen adrenal yang berlebihan pada SOPK belum jelas diketahui. Peningkatan kadar androgen adrenal pada SOPK tampaknya ditentukan oleh faktor ekstra adrenal seperti steroid ovarian dan insulin. Meskipun demikian, efek utama dari androgen ekstra adrenal dan insulin adalah meningkatkan aktifitas sulfotransferase, menghambat konversi DHEA menjadi DHEAS (Rusnasari, 2005).

Androgen berlebih mengganggu folikulogenesis sehingga mengakibatkan gangguan menstruasi, pengembangan beberapa kista di ovarium. Androgen (testosteron) menyebabkan resistensi insulin dengan menurunkan jumlah dan efektifitas protein pengangkut glukosa, khususnya *glucose transporter type 4* (GLUT-4) yang bertanggung jawab terhadap pengangkutan glukosa di otot dan lemak. Testosteron memfasilitasi lipolisis dan pemecahan lemak abdomen, menyebabkan peningkatan asam lemak bebas. Peningkatan androgen dan asam lemak bebas akan menghambat ekskresi insulin di hepar dan pengangkutan glukosa di otot, serta akhirnya menyebabkan hiperinsulinemia dan resistensi insulin (Marshall, 2001; Mukherjee, 2010).

2) Morfologi ovarium yang abnormal

Morfologi ovarium polikistik merupakan gambaran utama dari SOPK yang didefinisikan sebagai menstruasi tidak teratur dan hiperandrogenisme. Keberadaan morfologi ovarium polikistik tidak cukup untuk mendiagnosis SOPK dan dapat terlihat pada wanita normal (Bostansi, 2012). Pada penderita SOPK folikel tampak seperti kantung berisi cairan yang terlihat di dalam ovarium. Morfologi ultrasonografi dari ovarium polikistik ditandai dengan adanya 12 atau lebih folikel ovarium yang ukurannya antara 2 – 9 mm, mempunyai rerata atresia yang lambat dan sensitif terhadap FSH eksogen. Folikel ini disebut sebagai kista. Mereka diatur secara perifer di dalam ovarium pada pasien SOPK.

Pembesaran volume stroma hampir selalu ada yang menyebabkan volume total dari ovarium >10 cc. Penyebab kelainan morfologi ini diduga disebabkan oleh adanya androgen yang berlebihan. Androgen merangsang pertumbuhan folikel primer sampai dengan stadium folikel pre-antral dan *small antral*, dan proses ini dipercepat dengan adanya androgen yang berlebihan dibandingkan dengan ovarium yang normal. Faktor lain yang ditemukan pada SOPK yang ikut berpengaruh pada morfologi ovarium adalah

kelebihan beberapa faktor yang menghambat kerja dari FSH endogen (seperti follistatin, *epidermal growth factor* dll), kelebihan *factor anti-apoptotic* (BCL-2) yang dapat memperlambat *turn over* dari folikel yang terhambat ini. Kombinasi dari faktor-faktor tersebut menyebabkan morfologi ovarium yang karakteristik pada ovarium polikistik (Tan, 2011).

3) Kadar serum LH yang berlebihan

Wanita dengan siklus menstruasi normal akan berbeda dengan wanita SOPK. Pada wanita dengan SOPK akan menunjukkan sekresi LH yang tinggi dan sekresi FSH yang rendah secara konstan. Peningkatan rasio LH/FSH 2-3:1 secara laboratoris dipakai untuk menunjukkan sekresi gonadotropin yang meningkat. Peningkatan serum LH pada wanita dengan SOPK antara 30% – 90% (Rusnasari, 2005)

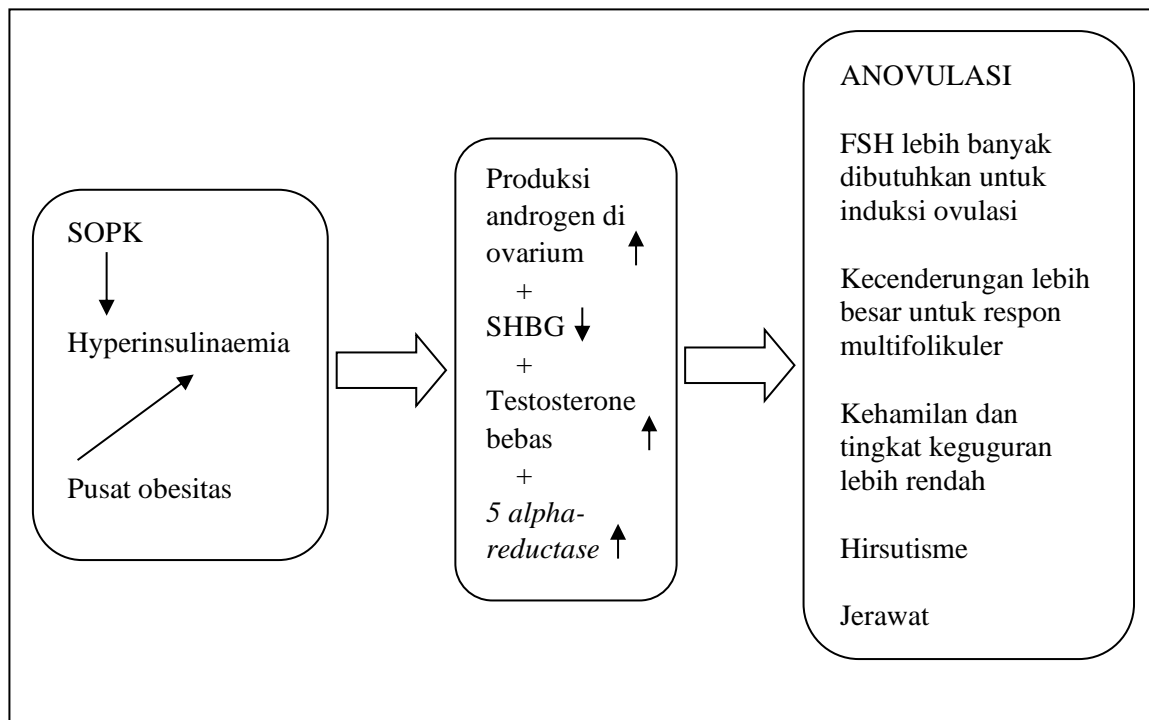
Salah satu yang mendasari regulasi abnormal GnRH pada SOPK sampai saat ini tetap belum jelas. Beberapa teori menyatakan bahwa ada perubahan input sistem neuronal GnRH yang disebabkan oleh insulin, IGFs dan steroid sex selama fase pubertas yang akan menginduksi terjadinya disregulasi GnRH. Peningkatan kadar estrone yang kronik, aromatisasi estrogen yang lemah secara perifer dari androstenedion pada SOPK diduga pula menghambat sensitivitas GnRH secara langsung pada sintesis gonadotropin melalui reseptor GnRH (Rusnasari, 2005).

Kadar serum LH yang berlebihan dapat dideteksi pada sampel darah pada satu kali pemeriksaan dalam lebih kurang 40-50% wanita dengan SOPK. Tingginya kadar LH lebih banyak terdapat pada wanita dengan berat badan yang kurus dibandingkan dengan yang obesitas, walaupun kadar serum FSH dalam batas normal, tetapi didapatkan penghambatan intrinsik pada kerja FSH. Kadar prolaktin pun mungkin sedikit meningkat.

4) Hiperinsulinemia

Hiperinsulinemia yang disebabkan oleh resistensi insulin terjadi pada lebih kurang 80% wanita dengan SOPK dan obesitas sentral dan juga pada lebih kurang 30-40% wanita dengan SOPK yang berbadan kurus. Hal ini disebabkan oleh kelainan pada *insulin post-receptor* dimana seharusnya yang bekerja fosforilasi tirosin tetapi yang terjadi adalah fosforilasi serin, ini berefek pada transport glukosa yang masuk ke dalam sel otot ataupun lemak. Pada kondisi resistensi insulin terjadi gangguan sinyal transduksi insulin yang melibatkan dua jalur utama yaitu *Phosphatidylinositol 3 Kinase* (PI3K) dan *p38 Mitogen Activated Protein Kinase* (MAPK) (Kusumastuty, 2010).

Resistensi insulin secara bermakna dieksaserbasi oleh obesitas, dan merupakan faktor utama dalam patogenesis anovulasi dan hiperandrogenism. Kelainan fungsi dari sel beta pankreas juga ditemukan pada SOPK.



Gambar 2.1 Peranan hiperinsulinemia dalam patogenesis anovulasi dan hiperandrogenisme (Homburg, 2008)

Keadaan hiperinsulinemia berakibat pada timbulnya hiperandrogen melalui beberapa mekanisme, pada hati akan berakibat menurunkan produksi SHBG serta penurunan IGFBP-1. Penurunan SHBG akan meningkatkan estradiol serta testosteron bebas (dalam bentuk aktif) dalam darah, sedangkan penurunan IGFBP-1 berakibat meningkatkan bioavailabilitas IGF-1 di sel teka, hal ini sangat berperan dalam proses maturasi folikel serta steroidogenesis. Bersama dengan IGF-2 yang dihasilkan di sel teka maka IGF-1 akan merangsang ovarium untuk memproduksi androgen melalui rangsangan pada reseptor IGF-1, ini berakibat pada peningkatan androstenedion dan testosteron (Slowey, 2001; Balen, 2005).

2.1.2 Manifestasi klinis

Gambaran klinik dan patologi dari ovarium polikistik atau mikropolikistik pertama kali di deskripsikan oleh *Antonio Vallisneri* pada tahun 1721. Sindrom ini sendiri di perkenalkan jauh setelah itu oleh *Stein* dan *Leventhal* pada tahun 1935 berdasarkan observasi mereka terhadap gejala-gejala yang terdiri dari amenorrhea,

hirsutisme dan obesitas pada wanita yang ovariumnya membesar dengan kista folikel yang banyak dan penebalan fibrotik dari *tunica albuginea* dan *cortical stroma*. Gambaran ovarium polikistik juga banyak terdapat pada wanita yang sama sekali normal dan tidak ada kelainan fenotip ovarium dan/atau endokrin. Sindroma ini terdiri dari gabungan antara gambaran klinik, gambaran ultrasonografi dan laboratorium yaitu oligo/amenorrhoea, oligo/anovulasi, hirsutisme, hiperandrogenaemia, morfologi ovarium yang spesifik, hiperinsulinaemia dan resistensi terhadap insulin (Tan, 2011).

Kejadian SOPK dengan gejala klinis beragam dan memberikan gambaran angka yang bervariasi. Adam dkk, 1986 melaporkan bahwa pada penderita ovarium polikistik (OPK) yang didiagnosa secara sonografi, didapati 30% menderita amenorrhea, 75% dengan oligomenorrhea, dan 90% didapati adanya peningkatan konsentrasi kadar LH dan androgen (Hadibroto, 2005). Dasar dari kelainan ini terletak pada ovarium, ekspresi klinik dan beratnya gejala tergantung pada faktor di luar ovarium seperti obesitas, resisten terhadap insulin dan konsentrasi LH. Kerja insulin yang terganggu menyebabkan terjadi hiperinsulinemia yang meningkatkan sekresi androgen di ovarium, yang disertai perkembangan folikel yang abnormal, yang menyebabkan gangguan fungsi ovarium (Tan, 2011; Rahayu, 2013).

2.1.3 Diagnosis

Diagnosis SOPK yang diterima secara luas saat ini berdasarkan pada kriteria *Rotterdam Consensus* yang diadopsi pada tahun 2003 oleh *European Society for Human Reproduction dan Embryology and the American Society for Reproductive Medicine* (ESHRE/ASRM). Dalam konsensus ini diperlukan adanya dua dari tiga kriteria mayor, yaitu:

- a) Oligo/ anovulasi
- b) Gejala hiperandrogen baik secara klinik maupun biokimia
- c) Gambaran morfologi polikistik ovarium pada pemeriksaan USG

Kondisi yang harus disingkirkan sebelum menentukan diagnosa SOPK adalah *thyroid dysfunction, congenital adrenal hyperplasia, hyperprolactinaemia, androgen-secreting tumors, dan Cushing's syndrome*. Menurut kriteria Rotterdam diagnosis ini, sebagian besar wanita dengan SOPK dapat didiagnosa tanpa memerlukan pemeriksaan laboratorium (Cho, 2008; Tan, 2011; Teede, 2011; Richard, 2013).

- Oligo/ anovulasi : ovulasi yang terjadi kurang dari satu kali dalam 35 hari.
- Hiperandrogenism : tanda-tanda klinik yang meliputi hirsutisme, jerawat, alopecia

(*malepattern balding*) dan virilisasi yang nyata. Indikator biokimia meliputi meningkatnya konsentrasi total testosteron dan androstendion dan meningkatnya androgen bebas indeks yang diukur dengan membandingkan total testosteroe dan *sex hormone binding globulin* (SHBG). Akan tetapi, pengukuran petanda biokimia untuk hiperandrogenisme sering memberikan hasil yang tidak konsisten, hal ini disebabkan oleh pemakaian berbagai metode yang berbeda.

- Ovarium polikistik : adanya 12 atau lebih folikel dalam salah satu ovarium dengan ukuran diameter 2-9 mm dan/atau meningkatnya volume ovarium (>10 ml).

2.1.4 Terapi SOPK

Terapi pada sindroma ovarium polikistik bertujuan untuk, pertama melancarkan siklus haid dan mengembalikan kesuburan, kedua merubah gangguan metabolik glukosa dan metabolisme lipid, ketiga mengidealkan berat badan karena kejadiannya berhubungan dengan kesakitan dan keempat untuk mengatasi aspek psikologis. Pengobatan SOPK bersifat simptomatis. Terapi sindroma ini berupa intervensi gaya hidup (untuk mengoptimalkan kesehatan prakonsepsi dan kesuburan serta mengurangi komplikasi jangka panjang, berhenti merokok dan mengoptimalkan olahraga sehingga berat badan menjadi ideal sebelum konsepsi, terapi berupa pengobatan termasuk *clomiphene citrate*, metformin, gonadotropin, operasi, dan fertilisasi in vitro (Rahayu, 2013; Teede, 2011).

Intoleransi glukosa dapat diatur dengan diet dan olahraga, serta pengontrolan berat badan. *Clomiphene citrate* merupakan farmakologi baris pertama yang diberikan untuk meningkatkan fertilitas pada wanita dengan SOPK dan *anovulatory infertility* tanpa faktor lain infertilitas. Klomifen sitrat adalah modulator reseptor estrogen selektif dengan estrogen dan antiestrogen. *Second line therapy* pada SOPK adalah *Laparoscope Ovarian Drilling* (LOD) atau gonadotropins dan *third line therapy* berupa IVF (Nestler, 2008; Teede, 2011).

2.2 Resistensi Insulin

2.2.1 Definisi

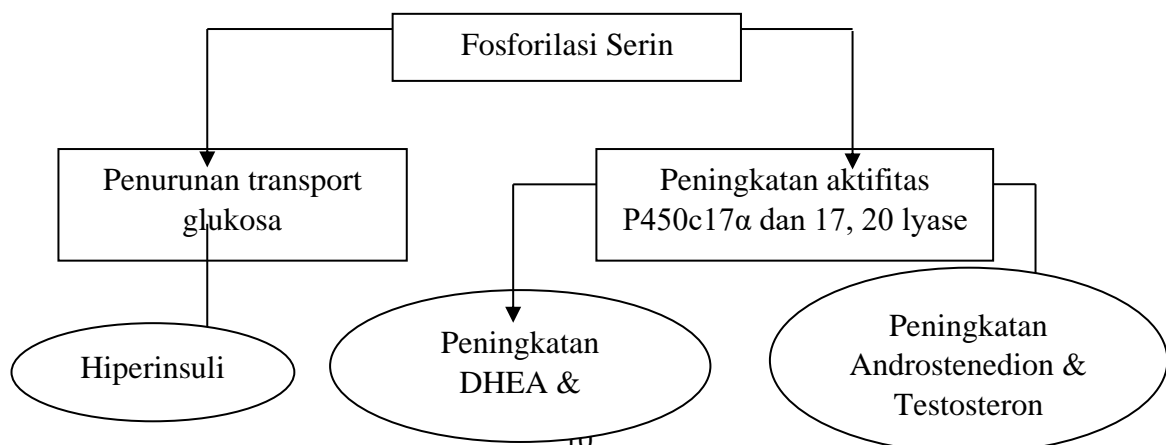
Resistensi insulin adalah penurunan kemampuan insulin untuk menstimulasi pemasukan glukosa ke dalam jaringan target atau suatu gangguan respon glukosa terhadap insulin, dengan akibat kebutuhan insulin tubuh meningkat sehingga terjadi hiperinsulinemia untuk mempertahankan kadar glukosa plasma agar tetap dalam batas

normal. Hal ini menyebabkan peningkatan sekresi insulin oleh sel β Langerhans (Kusumastuty, 2010; Tan, 2011). Gambaran penderita resistensi insulin tergantung pada kemampuan pankreas mengkompensasi resistensi jaringan target terhadap insulin (Balet, 2005; Speroff, 2011). Respon kompensasi sel β Langerhans menurun akan terjadi insufisiensi insulin oleh karena sekresi insulin tidak mampu mengimbangi resistensi insulin, kemudian menyebabkan intoleransi glukosa dan diabetes melitus tipe 2 (De Leo, 2003).

2.2.2 Resistensi insulin pada SOPK

Hubungan resistensi insulin, hiperinsulinemia terkompensasi serta hiperandrogen diduga sebagai patogenesis SOPK. Masalah utama dari resistensi insulin adalah penurunan sensitifitas insulin, kejadian ini merupakan efek sekunder akibat dari gangguan pasca pengikatan reseptor insulin yang akhirnya berakibat pada gangguan sinyal transduksi.

Kondisi resistensi insulin terjadi gangguan sinyal transduksi insulin yang melibatkan dua jalur utama yaitu PI3K dan MAPK (Kusumastuty, 2010). Fosforilasi tirosin meningkatkan aktifitas tirosin kinase pada reseptor insulin, di sisi lain fosforilasi serin berakibat pada hambatan aktifitas tirosin kinase, ini diduga pada sekitar 50% penderita SOPK memiliki aktifitas fosforilasi serin sehingga berakibat pada gangguan proses persinyalan. Fosforilasi serin pun ternyata juga memiliki efek untuk meningkatkan aktifitas dari $P450c17\alpha$, baik pada ovarium maupun adrenal yang akhirnya berakibat pada peningkatan produksi androgen. Efek fosforilasi serin berakibat pada penurunan transport glukosa dan menimbulkan keadaan hiperinsulinemia, di sisi lain fosforilasi serin juga berakibat pada peningkatan $P450c17\alpha$ dan $17,20$ lyase yang mengakibatkan peningkatan DHES di adrenal serta peningkatan androstenedion dan testosteron di ovarium (Balen, 2005; Salehi, 2004). Mekanisme kerja fosforilasi serin pada hiperinsulinemia dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Mekanisme kerja fosforilasi serin pada hiperinsulinemia (Speroff, 2011).

Insulin bekerja melalui beberapa mekanisme dalam usahanya untuk meningkatkan androgen endogen. Peningkatan resistensi insulin pada perifer akan berakibat terhadap peningkatan serum insulin. Insulin dalam kadar tinggi ini akan berikatan dengan reseptor IGF-1, ini dikarenakan struktur dari reseptor IGF-1 mirip dengan struktur insulin. Insulin dan IGF-1 bertanggung jawab terhadap gangguan ovulasi. IGF-1 ini merangsang sel teka ovarium serta bersama dengan LH akan merangsang produksi androgen di ovarium. Insulin secara tidak langsung juga dapat meningkatkan kadar androgen dengan menurunkan produksi SHBG (*Sex Hormone Binding Globulin*) di hati dan IGFBP-1 (*Insulin Like Growth Factor Binding Protein-1*) dan dengan demikian meningkatkan testosteron bebas dan level IGF-1, IGF-2 (Balen, 2005).

Pada konsentrasi tinggi, insulin sendiri mengaktivasi reseptor IGF-1 yang kemudian akan merangsang dibentuknya androgen di dalam ovarium. Peningkatan androstenedion sebagai akibat rangsangan IGF-1 akan meningkatkan produksi estron pada jaringan lemak, estron dengan estradiol bebas akan merangsang sekresi estrogen dimana estrogen memberikan rangsangan positif ke sentral, sehingga amplitudo dan frekuensi pulsasi GnRH meningkatkan produksi LH kemudian LH merangsang produksi androgen di ovarium.

Pada keadaan anovulasi yang terus menerus akan terjadi perubahan kadar hormon yang sebelumnya fluktuatif menjadi relatif menetap dengan kadar LH yang tinggi. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain:

- 1) Meningkatnya sensitifitas hipotalamus terhadap stimulasi GnRH.
- 2) Meningkatnya frekuensi sekresi GnRH akibat penurunan tonus opioid yang berfungsi menghambat sekresi GnRH akibat tidak adanya progesteron dalam waktu yang lama.
- 3) Meningkatnya kadar estron akibat pembentukannya di jaringan perifer, sedangkan kadar FSH tetap rendah karena pengaruh penekanan oleh kadar estron yang tinggi.

Kadar LH meningkat akan menyebabkan sel teka yang aktif menghasilkan androgen dalam bentuk androstenedion dan testosteron. Keadaan hiperandrogen ini

mengakibatkan lingkungan internal folikel bersifat dominan androgen sehingga tidak dapat berkembang dan menjadi atresia. Atresia pada folikel terutama berhubungan dengan degenerasi sel granulosa sementara sel teka masih dipertahankan. Sel teka masih aktif menghasilkan androgen akibat rangsangan LH, FSH, tidak secara total tersupresi (Balen, 2005).

Insulin sendiri juga dapat meningkatkan konsentrasi androgen melalui peningkatan aktifitas dari enzim sitokrom P450c17 α . Enzim ini mempunyai peran penting dalam biosintesa hormon steroid di ovarium maupun adrenal. Peningkatan aktifitas enzim sitokrom P450c17 α dan peningkatan serum 17 hidroxyprogesteron (17 OHP) sebagai akibat rangsangan dari GnRH akan berakibat produksi androgen yang berlebihan, hal ini mengakibatkan timbulnya keadaan anovulasi serta terjadinya atresia folikel (Balen, 2005).

2.3 Folikulogenesis

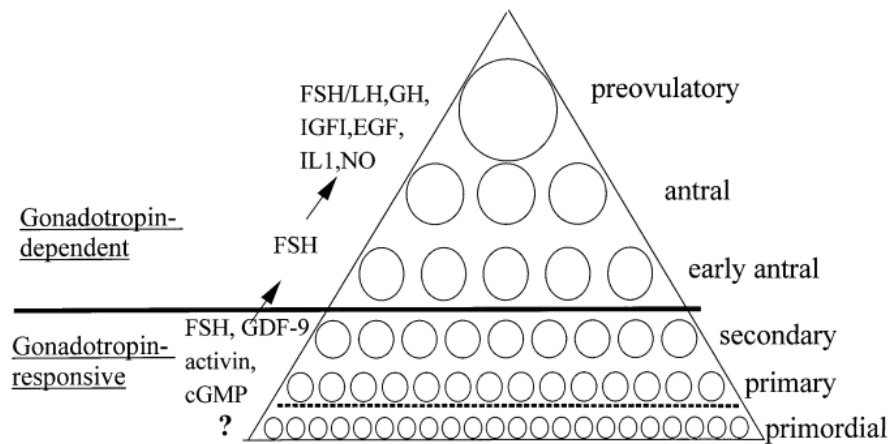
Folikulogenesis adalah proses yang bertanggung jawab untuk perkembangan folikel ovulatori dan pelepasan satu atau lebih oosit pada interval tertentu pada keseluruhan siklus reproduksi hewan. Pertumbuhan dan perkembangan folikel dikontrol oleh sistem kompleks yang melibatkan sumbu hipotalamus-hipofisa-ovarium. Hormon gonadotropin mempunyai peran penting dalam kontrol tersebut (Siregar, 2006).

Hormon gonadotropin yang terlibat dalam kontrol folikulogenesis adalah FSH dan LH. Hormon FSH berfungsi menginisiasi pertumbuhan folikel, sedang LH berfungsi menstimulasi pertumbuhan dan rupturnya folikel (Siregar, 2006).

Pembentukan folikel manusia dimulai sejak usia kehamilan 20-22 minggu ketika terdapat selapis sel pipih mengelilingi oosit. Setiap oosit yang dimiliki pada saat anak perempuan lahir masih dikelilingi oleh selapis sel granulosis yang disebut folikel primordial. Sel granulosis tersebut berfungsi sebagai sumber nutrisi oosit dan sekresi faktor penghambat maturasi oosit sehingga oosit tetap dalam fase profase miosis.

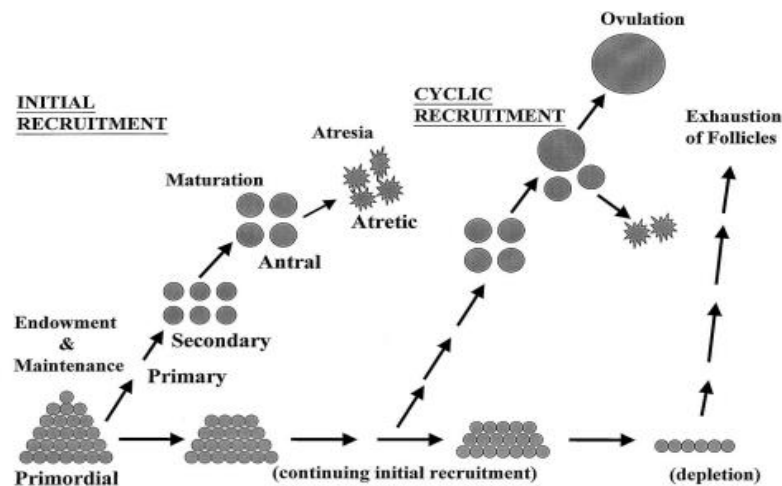
Folikel primordial merupakan awal proses folikulogenesis. Folikulogenesis adalah proses perkembangan folikel dari folikel primordial menjadi folikel primer, sekunder (preantral), antral dan folikel de Graaf. Perkembangan folikel diawali dengan stadium tanpa tergantung (Gambar 2.3), yaitu perkembangan dari folikel primordial hingga folikel sekunder/ preantral. Proses perkembangan tersebut menyebabkan respon

hormonal teratur dan progresif sehingga menghasilkan folikel matang dan siap untuk ovulasi (stadium tergantung gonadotropin). Proses enzimatik di dalam sel folikel diaktivasi oleh gonadotropin dan 17β estradiol (Garor, 2009; Guyton, 2007; Mehring, 2003; Dharma, 2009).



Gambar 2.3 Segitiga folikel (McGee, 2000)

Perkembangan folikel ovarium harus melewati 2 fase, yaitu *initial recruitment* dari folikel primordial hingga folikel preantral (tidak tergantung gonadotropin) dan *cyclic recruitment* yang tergantung oleh gonadotropin untuk perkembangan yang cepat dari folikel preantral hingga folikel *de Graaf* yang matur. *Cyclic recruitment* menentukan terbentuknya folikel dominan untuk ovulasi (Dharma, 2009).



Gambar 2.4 Riwayat hidup folikel ovarium (McGee, 2000)

Istilah perekrutan (*recruitment*) telah sering digunakan oleh peneliti berbeda untuk menggambarkan dua hal penting namun berbeda poin selama perkembangan folikel. Folikel primordial yang tidak aktif (*dormant*) direkrut ke dalam *follicle pool* yang tumbuh secara terus menerus, sedangkan peningkatan sirkulasi FSH selama siklus

setiap siklus reproduksi merekrut folikel antral. Berikut ini ditunjukkan titik percabangan sebagai perekrutan awal dan rekrutmen siklik dan telah diringkas perbedaan utama antara dua proses pada tabel 2.1.

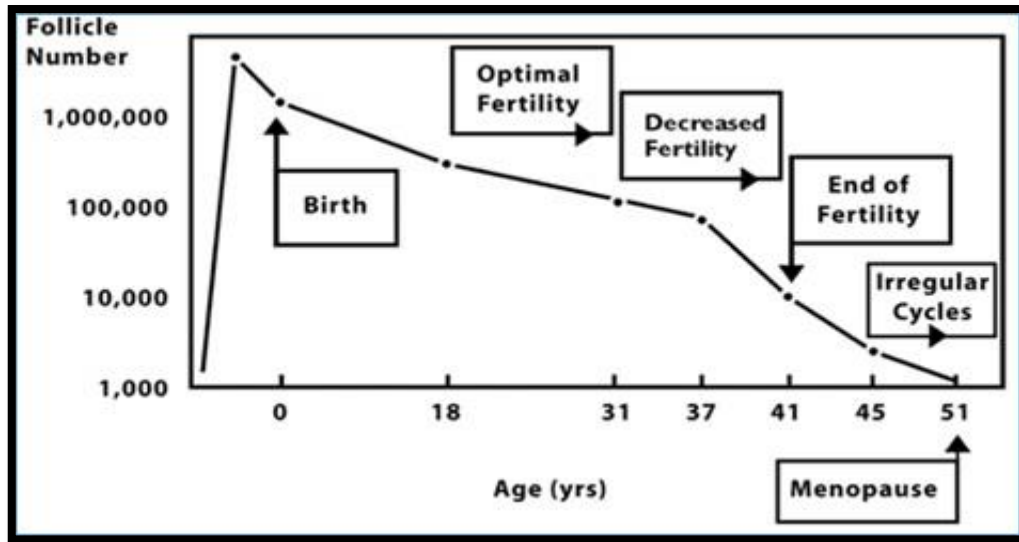
Tabel 2.1 Perbedaan antara *initial recruitment* dan *cyclic recruitment* (McGee, 2000)

Keterangan	<i>Initial recruitment</i>	<i>Cyclic recruitment</i>
Tahapan	Folikel primordial	Folikel antral (diameter pada manusia 2-5 mm, pada <i>rodent</i> 0,2-0,4 mm)
Hormon yang terkait	Tidak tergantung hormon	Tergantung FSH
Mekanisme yang terjadi	Masih belum aktif	Apoptosis
Waktu	Berlangsung terus menerus sepanjang hidup, dimulai sejak folikel terbentuk	Berlangsung secara siklik (pada manusia 28 hari, <i>rodent</i> 4-5 hari) dimulai setelah pubertas
Kondisi oosit	Mulai tumbuh, belum bisa memasuki fase menstruasi	Pertumbuhannya komplit, sudah dapat memasuki fase menstruasi

Urutan yang terjadi dalam folikulogenesis adalah membesarnya ukuran oosit sehingga diameternya bertambah 2-3 kali lipat, sel granulosis mengalami replikasi dan perubahan dari pipih menjadi kuboid, kemudian folikel tumbuh menjadi folikel primer. Proses selanjutnya terbentuk zona pelusida, yaitu lingkaran mukoid yang bening melingkupi oosit. Zona pelusida tetap ada hingga oosit yang dibuahi mencapai uterus. Proses terakhir adalah vaskularisasi sel teka interna dan dikelilingi oleh sel teka eksterna (Cunningham, 2006; Guyton, 2007).

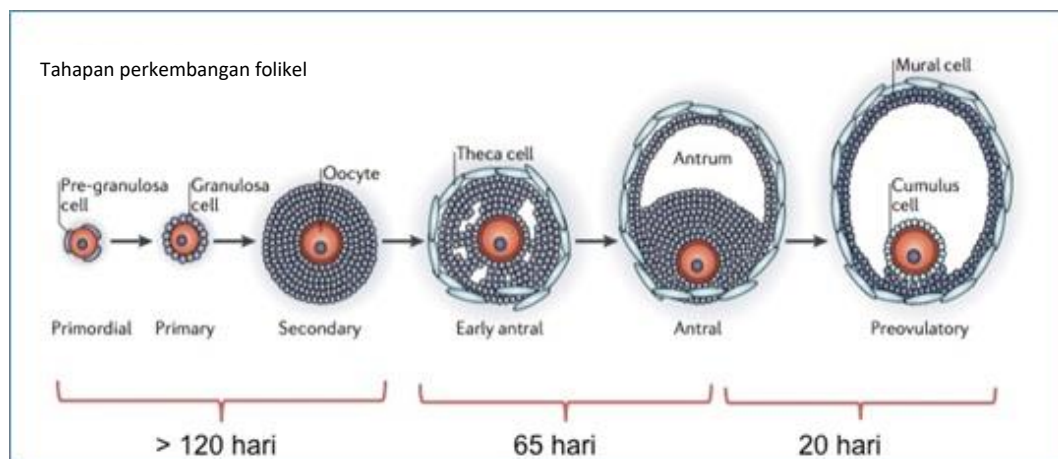
Perkembangan folikel diawali dari folikel primordial. Oosit di dalam folikel primordial berhenti berkembang pada fase diploten profase miosis, dikelilingi dipalisi 1 lapis sel squamosa granulosis dan dikelilingi oleh membran basal. Sel folikel primordial berasal dari endoderm *yolk sac*, alantois, dan usus embrio, dan akan bermigrasi ke *genital ridge* pada minggu ke 5-6 kehamilan. Pembentukan folikel

primordial berawal pada pertengahan masa kehamilan dan komplit setelah lahir. Jumlah folikel primordial pada awal pembentukan adalah 6-7 juta, kemudian berkurang menjadi 1-2 juta saat lahir, dan pada saat pubertas tinggal 3000-5000. Jumlah folikel yang mengalami ovulasi selama masa reproduksi wanita hanya 400-500 folikel, tahapan tersebut digambarkan pada gambar 2.5 (Dharma, 2009; Sperrof 2011).



Gambar 2.5 Skema dinamika jumlah folikel primordial terhadap usia seorang wanita. Sumber gambar: Sherman Silber. *Treating Infertility*, 2006 (gambar disadur dari Te Velde et al., 1998).

Folikel primordial akan berkembang dan sel yang mengelilingi stroma mengalami penggandaan dan menjadi lebih besar daripada sel yang mengelilingi jaringan ikat (Gambar 2.6). Ukuran folikel menjadi lebih besar, sel teka lutein mengandung lipid dan pigmen kekuningan sehingga sel menjadi bergranula dan terjadi peningkatan vaskularisasi dan jumlah ruang limfatik (Cunningham, 2006).



Gambar 2.6 Tahapan perkembangan folikel pada ovarium manusia. Sumber gambar: Li et al., 2013,

dengan beberapa modifikasi.

Folikel primer akan terbentuk setelah folikel primordial, ditandai oleh perubahan lapisan pregranulosa menjadi kuboid sehingga oosit dikelilingi oleh selapis sel granulosus berbentuk kuboid. Diameter folikel primordial dan folikel preantral (folikel sekunder) dimana oosit dilapisi oleh 2-3 lapis sel granulosus kuboid dengan diameter folikel 0,1-0,2 mm. Proliferasi sel granulosus menjadi lebih lengkap pada fase ini dan terjadi pembentukan badan *Call-Exner*, disebut juga antrum. Lapisan sel teka minor mengalami diferensiasi. Folikel yang sudah memiliki antrum disebut sebagai folikel antral, terbentuk karena responsif terhadap gonadotropin khususnya FSH yang kadarnya mulai meningkat di awal siklus haid. Kadar FSH tertentu dapat mempercepat pertumbuhan 6-12 folikel primer. Folikel antral ditandai dengan lapisan sel teka dan vaskularisasi folikel. Diameter folikel pada fase ini menjadi 0,2-0,4 mm (Speroff, 2011; Dharma, 2009; Garor, 2009). Folikel tersier (periode antral) terbentuk karena responsif terhadap gonadotropin khususnya FSH, di bawah pengaruh FSH dan estrogen, akumulasi cairan di dalam lapisan sel-sel granulosus akan membentuk kavitas folikuler yang disebut antrum. Oosit dan bagian sel-sel granulosus yang mengelilingi (sel-sel kumulus) secara bertahap bergeser ke salah satu sisi dari kavitas folikuler (Grunwald, 2000).

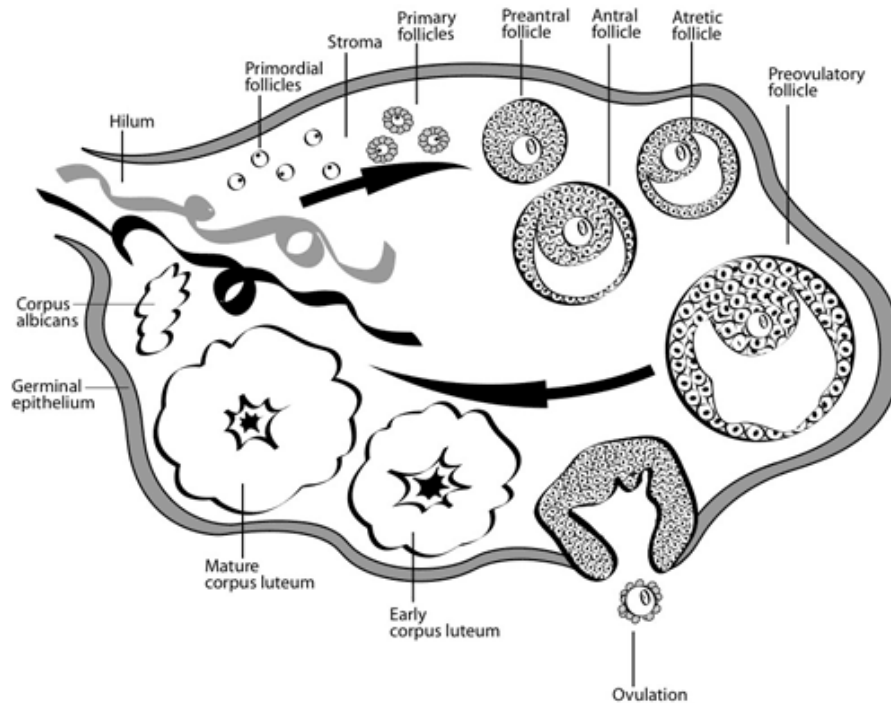
Folikel antral akan menjadi folikel *de Graaf* ditandai dengan membesarnya sel stroma yang mengelilinginya, berisi cairan folikulidan merapatnya jaringankapiler di sekelilingnya dan membentuk lapisan teka interna, yaitu lapisan di bagian dalam (sel teka mengelilingi folikel) (Cunningham, 2006; Speroff, 2011). Sel tersebut memiliki karakteristik yang mirip dengan sel granulosus, yaitu dapat mensekresi hormon steroid. Lapisan luar disebut sebagai teka eksterna, yaitu kapsul jaringan ikat yang sangat vaskular yang akan berkembang menjadi kapsul dari folikel yang berkembang (Guyton, 2007).

Folikel *de Graaf* merupakan tempat sintesis hormon steroid terutama androstenedion yang merupakan prekursor pembentukan 17β estradiol di sel granulosus. Lapisan dinding folikel jenis ini jika dilihat dari luar ke dalam terdiri dari 1 lapis jaringan ikat khusus (teka folikuli), 1 lapis epitel (membrana granulosus) oosit, dan cairan folikuli yang mengisi folikel. Teka folikuli terdiri dari teka interna di lapisan bagian dalam dan teka eksterna di lapisan bagian luar. Membran granulosus terdiri dari lapisan sel polygonal/ kuboid berisi nukleus bundar dan gelap, makin besar folikel maka

jumlah lapisan membrana granulosis makin sedikit. Membran ini akan menjadi lebih tebal dari bagian lain dan membentuk gundukan di dalamnya terdapat oosit, yaitu kumulus ooforus (Cunningham, 2006).

Folikel antral akan semakin besar. Pertumbuhannya disebabkan oleh sekresi estrogen oleh folikel itu sendiri semakin bertambah sehingga sel granulosis membentuk reseptor FSH yang semakin banyak. Folikel yang memiliki sel granulosis lebih banyak akan lebih sensitif terhadap FSH sehingga folikel akan semakin berkembang. FSH dan estrogen secara bersama-sama akan memicu reseptor LH di sel granulosis. LH yang berkaitan dengan reseptornya akan memicu sekresi folikel sehingga bertambah besar. Peningkatan kadar estrogen dan LH bersama-sama menyebabkan proliferasi sel teka folikel dan meningkatkan sekresinya, sehingga ukuran folikel akan bertambah besar dan massanya juga bertambah (Guyton, 2007; Speroff, 2011).

Hanya satu folikel yang tumbuh lebih besar dibandingkan dengan folikel lain. Folikel lain yang tidak tumbuh akan mengalami atresia disebabkan oleh folikel yang mensekresi estrogen lebih banyak akan membuat reseptor FSH lebih banyak, sehingga lebih sensitif terhadap FSH dan semakin bertambah besar membentuk folikel dominan. Folikel yang mensekresi estrogen lebih sedikit akan membentuk sedikit reseptor FSH sehingga kurang sensitif terhadap FSH, akibatnya tidak bisa berkembang dan menjadi atresia. Folikel dominan ini disebut folikel yang matang dan siap untuk berovulasi. Folikel akan kolaps setelah ovulasi, memasuki fase luteal dan siklus menstruasi dimulai. Sel granulosis yang tersisa akan membentuk korpus luteum karena berwarna kekuningan. Oosit yang tidak dibuahi akan menyebabkan korpus luteum menjadi korpus albikan yang berwarna putih (Gambar 2.7) (Guyton, 2007; Speroff, 2011).



Gambar 2.7 Pertumbuhan folikel dan ovulasi (Filiberto, 2015)

2.4 Teh Hijau

Di Asia, teh hijau merupakan minuman yang dikonsumsi energi dan zat gizi dihitung melalui jumlah rata-rata *intake* secara luas dan dipercaya dapat meningkatkan kesehatan makan tikus dalam sehari (gram) dibagi dengan gram secara signifikan. Efek terhadap kesehatan tersebut pakan yang disajikan dan dikalikan dengan jumlah energi disebabkan oleh adanya kandungan polifenolik flavonoid atau zat gizi yang terdapat pada standar nilai pakan dari teh hijau (Kusumastuty, 2010).

Teh hijau adalah teh yang dalam proses pembuatannya tidak mengalami fermentasi. Teh hijau dapat diperoleh melalui pemanasan (udara panas) dan penguapan. Kedua metode itu berguna untuk mencegah terjadinya oksidasi enzimatis katekin. Teh oolong adalah teh yang mengalami semi fermentasi yaitu diproses melalui pemanasan daun dalam waktu singkat setelah penggulangan. Teh hitam adalah teh yang pada proses pembuatannya dengan atau mengalami fermentasi penuh. Pada proses ini katekin teh berubah menjadi molekul yang lebih kompleks dan ppekat sehingga memberi ciri khas teh hitam yaitu berwarna, kuat, dan berasa tajam. Perbedaan pengolahan menimbulkan adanya perbedaan yang cukup berarti dalam kandungan zat aktifnya terutama polifenol. Daun teh hijau memiliki kandungan polifenol tertinggi, lalu teh oolong kemudian teh hitam (Widyaningrum, 2013).

Teh hijau memiliki berbagai khasiat antara lain mengurangi risiko kanker (kanker perut, kanker payudara, kanker kandung, kanker prostat, kanker rongga mulut) menurunkan kadar kolesterol darah, mencegah tekanan darah tinggi, membunuh bakteri, pembunuh virus influenza, mengurangi stres. Teh hijau juga berfungsi melangsingkan badan, meningkatkan kemampuan belajar, menurunkan kadar gula darah, mencegah pengeroposan gigi, anti oksigen dan mencegah penuaan dini, mengatasi penyakit jantung koroner, menurunkan risiko terjadinya penyakit kardiovaskuler, meningkatkan kekebalan tubuh, mencegah penyakit ginjal, mencegah penyakit parkinson, mencegah nafas tidak sedap, dan antiosteoporosis.

2.4.1 Taksonomi



Gambar 2.8 Tanaman teh hijau

Taksonomi tanaman teh *Camellia sinensis* diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Sub Kelas	: <i>Dialypetalae</i>
Ordo	: <i>Guttiferales (Clusiales)</i>
Familia	: <i>Camelliaceae (Theaceae)</i>
Genus	: <i>Camellia</i>
Spesies	: <i>Camellia sinensis</i>
Varietas	: <i>Assamica</i>

2.4.2 Komposisi kandungan zat kimia

Daun teh mengandung zat-zat yang larut dalam air, seperti katekin, kafein, asam amino, dan berbagai gula. Setiap 100 gram daun teh mempunyai kalori 17 kj dan mengandung 75-80% air, 16-30% katekin, 20% protein, 4% karbohidrat, 2,5-4,5%

kafein, 27% serat, dan 6% pektin. Komposisi kandungan zat kimia dalam daun teh hijau disebutkan dalam tabel 2.2.

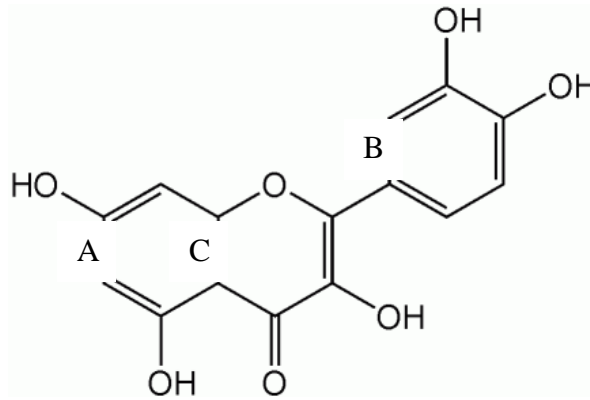
Tabel 2.2 Komposisi kandungan zat kimia dalam daun teh hijau

No.	Komposisi	% Berat Kering
1.	Kafein	7,43
2.	(-) Epicatechin	1,98
3.	(-) Epicatechin gallat	5,20
4.	(-) Epigallocatechin	8,42
5.	(-) Epigallocatechin gallate	20,29
6.	Flavonol	2,23
7.	Theanin	4,70
8.	Asam glutamat	0,50
9.	Asam aspartat	0,50
10.	Arginin	0,74
11.	Asam amino lain	0,74
12.	Gula	6,68
13.	Bahan yang dapat mengendapkan alkohol	12,13
14.	Kalium (potasium)	3,96

Katekin adalah flavonol utama yang terutama terdiri dari *Epigallocatechin gallate* (EGCG), *Epigallocatechin* (EGC), *Epicatechin gallate* (ECG), dan *Epicatechin* (EC). Saat ini telah dilakukan isolasi dan purifikasi golongan senyawa katekin dan EGCG teh hijau klon GMB4 oleh Lembaga Penelitian Teh dan Kina Gambung yang menemukan bahwa pada 100 gram teh hijau terdapat 12 hingga 14% isolat golongan senyawa katekin (Kusumastuty, 2010).

2.4.3 *Epigallocatechin gallate* (EGCG)

Kandungan terbesar dalam pucuk daun teh hijau adalah katekin atau *Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG). EGCG merupakan senyawa polifenol yang memiliki 15 atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6 yaitu 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan 3 karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin. Ketiga cincin tersebut diberi tanda A, B, dan C, atom karbonnya diberi nomor menurut sistem penomoran yang menggunakan angka biasa untuk cincin A dan C serta angka beraksen untuk cincin B.



Gambar 2.9 Kerangka dasar flavonoid

Daun teh hijau mengandung 10-20% *catechin*, terutama EGCG (Nagao *et al.*, 2007). EGCG adalah komponen polifenol pada teh hijau yang paling banyak dipelajari dan merupakan zat yang paling aktif. Polifenol lainnya pada teh hijau termasuk flavanol dan glikosida serta depsides seperti *chlorogenic acid*, *quinic acid*, karotenoid, *trigalloyglucose*, lignin, protein, klorofil, mineral (aluminium atau mangan tergantung kandungan mineral dalam tanah) (Velayutham *et al.*, 2008).

2.4.4 Farmakodinamik

Produk natural dengan rendah toksisitas seperti *poliphenol green tea* yang berisi *Epigallocatechin gallate* (EGCG) diperlukan dalam meningkatkan kerja insulin. Kerja EGCG diharapkan dapat menghambat resistensi insulin, menghambat penurunan PI3K dan menghambat peningkatan MAPK.

2.5 Tinjauan Hewan Coba Tikus *Rattus norvegicus*

Hewan coba merupakan hewan yang dikembangbiakkan untuk dipergunakan sebagai hewan uji coba. Tikus sering digunakan pada berbagai macam penelitian medis selama bertahun-tahun. Hal ini dikarenakan tikus memiliki karakteristik genetik yang unik, mudah berkembang biak, murah serta mudah untuk mendapatkannya. Tikus merupakan hewan yang melakukan aktivitasnya pada malam hari (*nocturnal*).

2.5.1 Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Ordo Rodentia merupakan ordo terbesar dari kelas mamalia karena memiliki jumlah spesies (40%) dari 5.000 spesies di seluruh mamalia.



Gambar 2.10 *Rattus norvegicus* betina

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Mamalia</i>
Ordo	: <i>Rodentia</i>
Sub-ordo	: <i>Sciurognathi</i>
Famili	: <i>Muridae</i>
Sub-famili	: <i>Murinae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Tikus putih merupakan strain albino dari *Rattus norvegicus*. Tikus memiliki beberapa galur yang merupakan hasil pembiakkan sesama jenis atau persilangan galur tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah galur Wistar.

2.5.2 Ciri morfologi

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang memiliki nama lain Norway rat, termasuk ke dalam hewan mamalia yang memiliki ekor panjang. Ciri morfologi (*Rattus norvegicus*) antara lain memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul, dan badan besar dengan panjang 18-25 cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga relatif kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm (Depkes, 2011). Ciri galur ini yaitu bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit. Telinga tikus ini tebal dan pendek dengan rambut halus. Mata tikus putih berwarna merah. Ciri yang paling terlihat adalah ekornya yang panjang. Bobot badan betinanya mencapai 200 gram. Tikus memiliki lama hidup berkisar 4-5 tahun (Sirois, 2005),

2.5.3 Biologi dan perilaku tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus memiliki masa kawin pada saat berumur delapan sampai sembilan minggu. Tikus merupakan hewan poliestrus dan berkembang biak sepanjang tahun. Periode estrus terjadi selama dua belas jam dan lebih sering terjadi pada malam hari dibandingkan dengan siang hari. Siklus reproduksi pada mamalia (primata) disebut dengan siklus menstruasi, sedangkan siklus reproduksi pada non-primata disebut siklus estrus (Champbell, 2004).

2.5.4 Proses siklus estrus

Siklus estrus adalah proses berulang yang menggambarkan perubahan kadar hormon yang disebabkan oleh aktivitas ovarium di bawah pengaruh hormon pituitari. Perubahan kadar hormon reproduksi selanjutnya menyebabkan perubahan struktur pada jaringan penyusunnya. Siklus estrus ditandai dengan adanya birahi pada hewan betina, sehingga akan bersifat reseptif terhadap hewan jantan pada saat estrus. Panjang siklus estrus pada tikus adalah 4 – 5 hari (Marcondes, 2002).

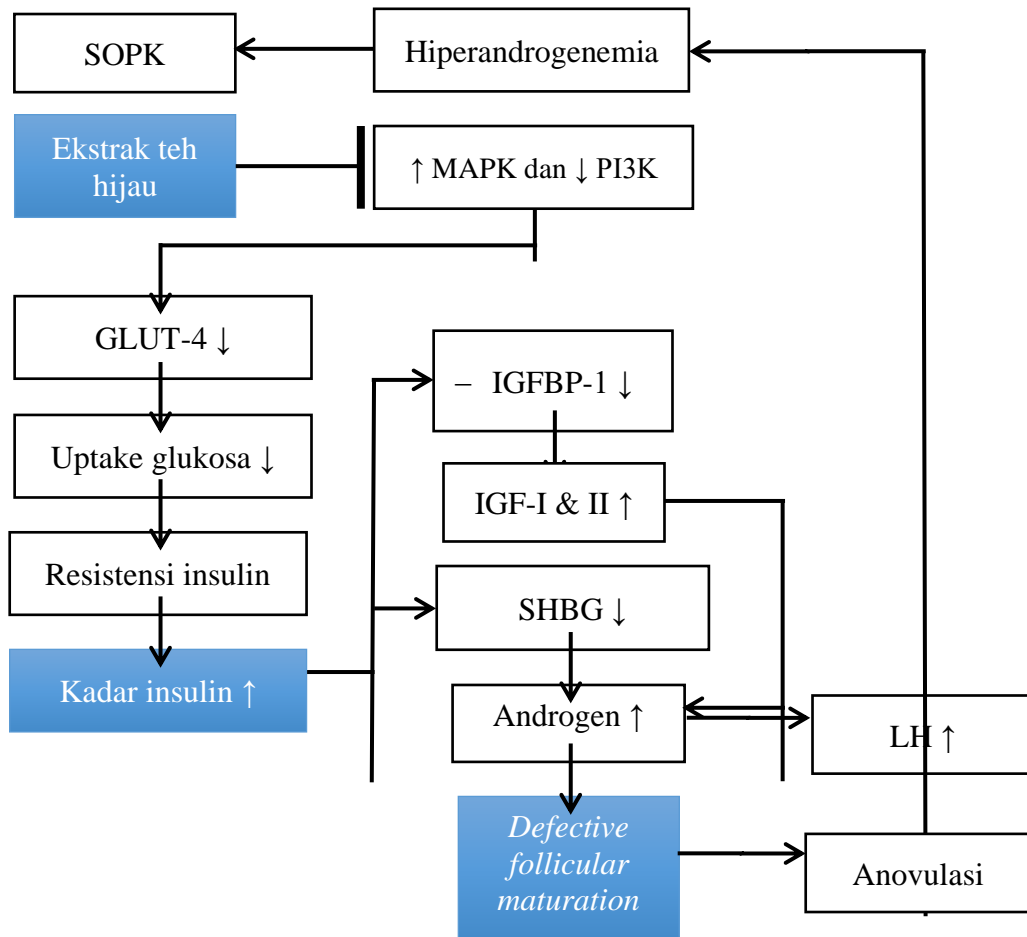
Siklus estrus dibedakan dalam 2 fase, yaitu fase folikuler dan fase luteal. Fase folikuler adalah pembentukan folikel sampai masak, sedangkan fase luteal adalah fase setelah ovulasi, kemudian terbentuknya korpus luteum dan sampai mulainya siklus. Siklus estrus terdiri dari 4 fase, yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus.

Proestrus adalah periode dimana folikel tumbuh dibawah pengaruh FSH dan dari folikel dapat menghasilkan hormon estradiol. Fase ini berlangsung pendek sekitar 12-14 jam, diikuti oleh perubahan tingkah laku dan perubahan pada alat kelamin luar. Estrus atau birahi ditandai dengan keinginan hewan betina menerima pejantan untuk kopulasi. Estrus pada tikus biasanya dimulai pada jam 4 sore sampai jam 10 malam yang ditandai dengan perubahan mukosa vagina yang dapat diketahui melalui pemeriksaan vagina (*vagina smear*). Lama periode estrus berlangsung antara 12 jam. Metestrus merupakan fase yang terjadi setelah estrus selesai. Preparat ulas vagina terlihat adanya leukosit dan beberapa epitel yang masih mengalami kornifikasi. Lama periode metestrus berlangsung 6-8 jam. Diestrus merupakan periode terakhir yang paling lama dalam siklus birahi. Fase ini dijumpai banyak sel leukosit dan menjelang fase akhir diestrus akan dijumpai sedikit sel epitel pada preparat ulas vagina. Lama periode diestrus berlangsung 55-57 jam. Fase diestrus berakhir akan segera disusul dengan fase proestrus lagi, demikian seterusnya (Rahayu, 2013). Kriteria penentuan siklus estrus berdasarkan perubahan bentuk epitel dapat dilihat pada tabel 2.3.

Tabel 2.3 Kriteria penentuan siklus estrus berdasarkan perubahan bentuk epitel (Bowen, 1998; Nadjamudin, 2010; Nalley, 2011)

No.	Fase	Sel epitel	Bentuk sel	Leukosit
1	Proestrus	Sel intermediet	Bulat, terdapat inti dan berbentuk oval, dan berada di tengah sel	Ada
2	Estrus	Sel superfisial	Poligonal, pipih, sitoplasma luas, tidak berinti, pinggiran sel melipat	Tidak ada
3	Metestrus	Sel parabasal	Bulat, inti relatif besar dibandingkan sitoplasma	Ada
4	Diestrus	Sel parabasal	Berinti, leukosit terdapat lendir	Ada

2.6 Kerangka Teori



Gambar 2.11 Kerangka Teori

Keterangan: : Diteliti ↓ : Menyebabkan —| : Menghambat
 : Tidak diteliti ↑ : Meningkat ↓ : Menurun

BAB 3

TUJUAN DAN MANFAAT

3.1 Tujuan Penelitian

3.1.1 Tujuan umum

Mempelajari pengaruh ekstrak teh hijau dengan berbagai dosis terhadap kadar insulin dan folikulogenesis (folikel primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) tikus model SOPK – resistensi insulin.

3.1.2 Tujuan khusus

- 1) Membandingkan kadar insulin tikus model SOPK – resistensi insulin antara kelompok yang diberi perlakuan ekstrak teh hijau dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, 800 mg/kgBB dengan kelompok kontrol.
- 2) Membandingkan folikulogenesis tikus model SOPK – resistensi insulin antara kelompok yang diberi perlakuan ekstrak teh hijau dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, 800 mg/kgBB dengan kelompok kontrol.

3.2 Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Memberikan informasi ilmiah mengenai penelitian kasus SOPK dengan resistensi insulin melalui pemberian ekstrak teh hijau dapat menurunkan kadar insulin dan meningkatkan folikulogenesis pada tikus betina model SOPK – resistensi insulin.

2. Manfaat praktis

Sebagai dasar penelitian lanjutan pada manusia untuk efektifitas dan menetapkan dosis terapi, efek samping obat serta manfaat selanjutnya dapat digunakan untuk menghasilkan obat herbal dari teh hijau terhadap penderita SOPK – resistensi insulin.

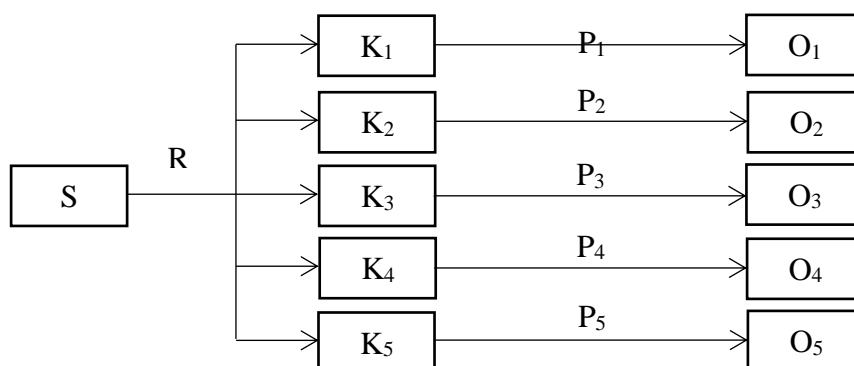
BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental (*true experimental*). Studi eksperimental dinyatakan sebagai uji yang paling tepat untuk menentukan hubungan sebab akibat (*cause and effect relationship*), untuk menguji hipotesis yang berhubungan dengan etiologi, memiliki kontrol terhadap penyakit, dan untuk menjawab pertanyaan masalah ilmiah lainnya (Chandra, 2009; Crosby, 2006). Bentuk rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (*Fully Randomized Design, Completely Randomized Design*). Pada awal penelitian dilakukan penghomogenan sampel penelitian. Subjek penelitian terhadap tikus dibagi dalam 5 kelompok yang dipilih secara acak.

Skema rancangan penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 4.1 Rancangan penelitian

Keterangan:

S : sampel

R : *random*

K₁ : kelompok kontrol negatif

K₂ : kelompok kontrol positif

K₃ – K₅ : kelompok perlakuan

P₁ : perlakuan non-SOPK dan non-resistensi insulin dengan aquades

P₂ : perlakuan SOPK resistensi insulin dengan aquades

P₃ : perlakuan SOPK resistensi insulin dengan ekstrak teh hijau 200 mg/kgBB

P₄ : perlakuan SOPK resistensi insulin dengan ekstrak teh hijau 400 mg/kgBB

P₅ : perlakuan SOPK resistensi insulin dengan ekstrak teh hijau 800 mg/kgBB

O₁ – O₅ : pengamatan

4.2 Populasi, Sampel, dan Teknik Pengambilan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina yang berumur 3 bulan dengan berat badan 100 – 110 gram.

4.2.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus putih betina berumur 3 bulan dengan berat badan 100 – 110 gram, sehat, dan tidak sedang bunting. Besar sampel minimal yang digunakan berdasarkan rumus replikasi (Kemas, 2005) untuk penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap, yaitu:

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(5-1)(r-1) \geq 15$$

$$4(r-1) \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 4,75 \infty 5 \text{ (pembulatan)}$$

Keterangan:

t = jumlah *treatment*/ perlakuan

r = jumlah replikasi (jumlah sampel tiap kelompok perlakuan)

Jumlah sampel yang digunakan berdasarkan hasil perhitungan di atas adalah sebanyak 25 ekor tikus yang dibagi ke dalam 5 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 5 ekor hewan coba. Menghindari kematian dan hal lain yang tidak diinginkan maka masing-masing kelompok ditambah 2 ekor maka sampel keseluruhan menjadi 35 ekor

4.2.3 Teknik pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak. Sebelumnya dilakukan penghomogenan sampel. Semua tikus ditandai dengan angka 1 sampai 35 kemudian diacak memilih 7 ekor pertama untuk kelompok kontrol negatif, 7 ekor kedua untuk kelompok kontrol positif SOPK – resistensi insulin, 7 ekor ketiga kelompok perlakuan 1 SOPK – resistensi insulin, 7 ekor keempat kelompok perlakuan 1 SOPK – resistensi insulin, 7 ekor kelima kelompok perlakuan 1 SOPK – resistensi insulin.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi variabel

Variabel dalam penelitian ini terdiri dari 3 macam variabel yaitu, variabel bebas (*independent variable*), variabel terikat (*dependent variable*), dan variabel kendali.

- 1) Variabel bebas, yaitu dosis ekstrak teh hijau 200 mg/kgBB, dosis ekstrak teh hijau 400

mg/kgBB, dosis ekstrak teh hijau 800 mg/kgBB.

- 2) Variabel terikat, yaitu kadar insulin dan jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tertier, dan folikel *de Graaf* pada ovarium sebelah kanan dan kiri.
- 3) Variabel terkendali, yaitu jenis hewan coba, jenis kelamin hewan coba, umur hewan coba, berat badan hewan coba, pemeliharaan dan perawatan hewan coba, dan perlakuan hewan coba.

4.3.2 Definisi operasional

No.	VARIABEL	DEFINISI OPERASIONAL	CARA PERHITUNGAN	HASIL PERHITUNGAN	SKALA DATA
1.	Ekstrak teh hijau	Ekstraksi daun teh hijau. Diberikan dengan dosis berbeda pada tiap kelompok perlakuan, yaitu: – 200 mg/kgBB – 400 mg/kgBB – 800 mg/kgBB	-	-	-
2.	Kadar Insulin	Pemeriksaan jumlah insulin	Dengan darah penuh tikus diperiksa dengan stick insulin	Angka yang ditunjukkan pada alat pemeriksaan	Interval
3.	Jumlah folikel primer	Banyaknya folikel yang ditandai dengan oosit yang dikelilingi oleh selapis sel epitel kuboid, ditemukan adanya zona pelusida di bawah lapisan folikel	Perhitungan dilakukan pada 5 lapangan pandang setiap preparat pada pembesaran 100x dengan mikroskop cahaya	Rerata jumlah folikel primer dari kedua ovarium setiap tikus	Interval
4.	Jumlah folikel sekunder	Banyaknya folikel yang ditandai dengan oosit yang dikelilingi oleh 2-3 lapis sel epitel kuboid (stratum granulosum)	Perhitungan dilakukan pada 5 lapangan pandang setiap preparat pada pembesaran 100x dengan mikroskop cahaya	Rerata jumlah folikel sekunder dari kedua ovarium setiap tikus	Interval
5.	Jumlah folikel tersier	Banyaknya folikel yang ditandai dengan stratum granulosum yang lebih besar dari pada folikel sekunder, terdapat antrum yang berisi cairan. Folikel ini Rasioidikelilingi oleh teka interna dan eksterna.	Perhitungan dilakukan pada 5 lapangan pandang setiap preparat pada pembesaran 100x dengan mikroskop cahaya	Rerata jumlah folikel tersier dari kedua ovarium setiap tikus	Interval
6.	Folikel <i>de Graaf</i>	Banyaknya folikel yang ditandai dengan oosit yang dikelilingi oleh	Perhitungan dilakukan pada 5 lapangan pandang setiap preparat	Rerata jumlah folikel <i>de Graaf</i> dari kedua ovarium setiap tikus	Interval

beberapa lapis sel epitel dalam cumulus ooforus, disebut korona radiate. Antrum lebih luas daripada folikel tersier dan terisi cairan folikuli.	pada pembesaran 100x dengan mikroskop cahaya
---	--

4.4 Bahan Penelitian

4.4.1 Bahan kimia dan alat

- 1) Ekstrak teh hijau dan sonde tikus
- 2) Kit insulin ELISA
- 3) Kit pemeriksaan HE (folikulogenesis)
- 4) Testosteron propionat dan spuit 1 cc
- 5) Aquades, NaCl CMC 0,5%, alkohol 70%, formalin buffer 10%
- 6) Kit swab vagina (*cotton bud*, *object glass*, pewarna *giemsa*)
- 7) Masker, sarung tangan, jas laboratorium
- 8) Kamera digital dan mikroskop cahaya

4.4.2 Hewan coba

Penelitian ini menggunakan tikus betina (*Rattus norvegicus*) umur 1 bulan dan mempunyai berat 100 – 110 gram yang diperoleh dari peternakan Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Pemeliharaan tikus dilakukan di dalam kandang plastik ukuran 50 x 30 cm dengan alas sekam kayu yang diganti setiap 4 hari sekali, makanan dan minuman (nutrisi tikus betina), timbangan untuk menimbang berat badan tikus, testosteron propionat, spuit untuk injeksi testosteron propionat, sonde untuk memasukkan ekstrak teh hijau, *object glass* dan penutupnya, pewarna *giemsa*, pewarna asam pikrat, spidol permanent, alat bedah, papan diseksi, dan mikroskop cahaya. Kandang kemudian diletakkan di ruangan berventilasi udara alami di laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

4.5 Instrumen Penelitian

Instrumen yang dipakai dalam penelitian ini adalah lembar pengumpul data yang berisikan jenis data yang dibutuhkan untuk keperluan penelitian yaitu kadar insulin dan folikulogenesis (folikel primer, sekunder, tersier, dan de Graaf).

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kandang Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei – Juli 2015.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan hewan coba

Hewan coba sebelum dilakukan penelitian diadaptasikan di tempat pemeliharaan sekaligus pemilihan hewan coba yang akan dijadikan sampel dengan ditimbang berat badannya dan diberi nomor pada punggungnya dengan asam pikrat. Hewan yang tidak sehat, sedang bunting, berjenis kelamin jantan dikeluarkan dari penelitian.

4.7.2 Pembagian kelompok dan perlakuan sampel

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok dengan 2 kelompok sebagai kelompok kontrol dan 3 kelompok sebagai kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri atas 7 hewan coba. Kelompok kontrol terdiri dari kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif. Kelompok kontrol negatif diberikan aquades selama 14 hari. Kelompok kontrol positif diberikan injeksi testosteron propionat 1 mg/100grBB secara intramuskular di paha selama 28 hari untuk mendapatkan model SOPK – resistensi insulin dan aquades sebagai terapinya. Kelompok perlakuan diberikan injeksi testosteron propionat 1 mg/100grBB secara intramuskular selama 28 hari agar didapatkan model SOPK – resistensi insulin. Tikus model SOPK – resistensi insulin setelah 28 hari diterapi dengan ekstrak teh hijau dengan masing-masing dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, 800 mg/kgBB selama 14 hari.

4.7.3 Pemberian testosteron

Testosteron merupakan hormon yang digunakan untuk pembuatan model Sindroma Ovarium Polikistik (SOPK) pada penelitian ini, hormon ini dapat diberikan secara intramuskular atau subkutan di paha kiri dengan dosis 1mg/100grBB, volume yang dimasukkan ke setiap tikus adalah 0,1 cc/100grBB, diberikan 1 kali/hari selama 28 hari hingga model SOPK – RI didapatkan. Swab vagina untuk mengetahui siklus apa yang sedang berlangsung sebelum pemberian testosteron. Siklus estrus adalah siklus yang diharapkan sebelum pemberian testosteron.

4.7.4 Pemberian ekstrak teh hijau

Ekstrak teh hijau yang dipakai dalam penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu, semua proses dilakukan sesuai standar untuk

mendapatkan ekstrak teh hijau. Pemberian ekstrak teh hijau dengan masing-masing dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, 800 mg/kgBB selama 14 hari dengan alat sonde. Volume yang diberikan untuk tikus menggunakan acuan sesuai dengan jurnal *University of Minnesota* untuk spesies *Rat* sebesar 0,1 – 0,2 ml/ 10 g atau 1 – 2 ml/ 100 g.

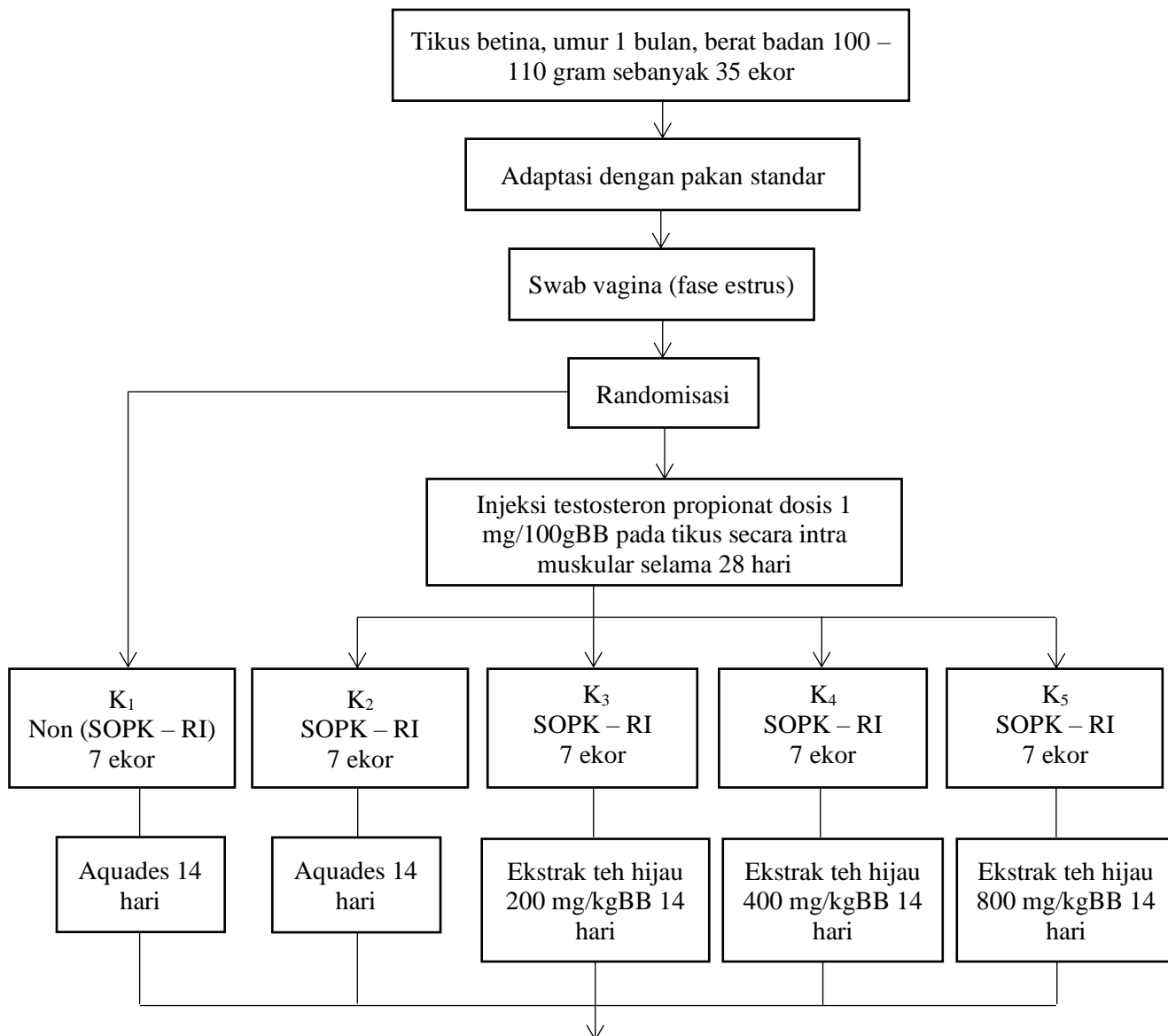
4.7.5 Pengukuran kadar insulin

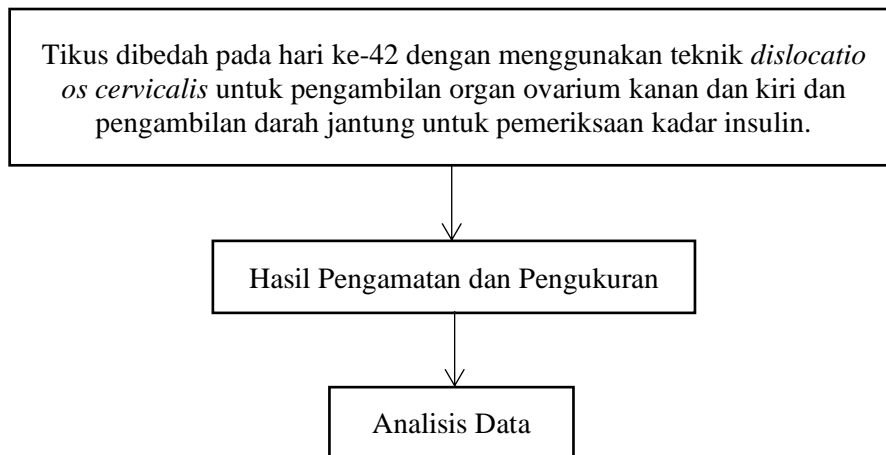
Pengukuran kadar insulin menggunakan *Hormonal quantitative analysis* ELISA dilakukan di laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

4.7.6 Pengukuran Folikulogenesis

Folikulogenesis (folikel primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) dengan pewarnaan HE (*Hematoxylin-Eosin*). HE adalah metode pewarnaan yang banyak digunakan dalam dalam pewarnaan jaringan, sehingga diperlukan dalam penelitian ini.

4.8 Alur Penelitian





Gambar 4.2 Alur penelitian

4.9 Analisis Data

4.9.1 Analisis deskriptif

Analisis data untuk mengetahui distribusi frekuensi meliputi: mean, SD, uji normalitas, dan uji homogenitas dari jumlah kadar insulin dan nilai rata-rata jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, dan folikel de Graff pada kelompok.

4.9.2 Analisis analitik

Data hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis dengan program R (R Core Team, 2013). Analisis analitik untuk mengetahui adanya beda antar variabel dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Uji *Kruskal-Wallis* yang bermakna secara signifikan akan dilanjutkan dengan uji pasca *Kruskal-Wallis/ post hoc* untuk mengetahui dosis yang paling efektif.

BAB 5

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Ekstrak Teh Hijau terhadap Kadar Insulin Tikus Model SOPK – Resistensi Insulin

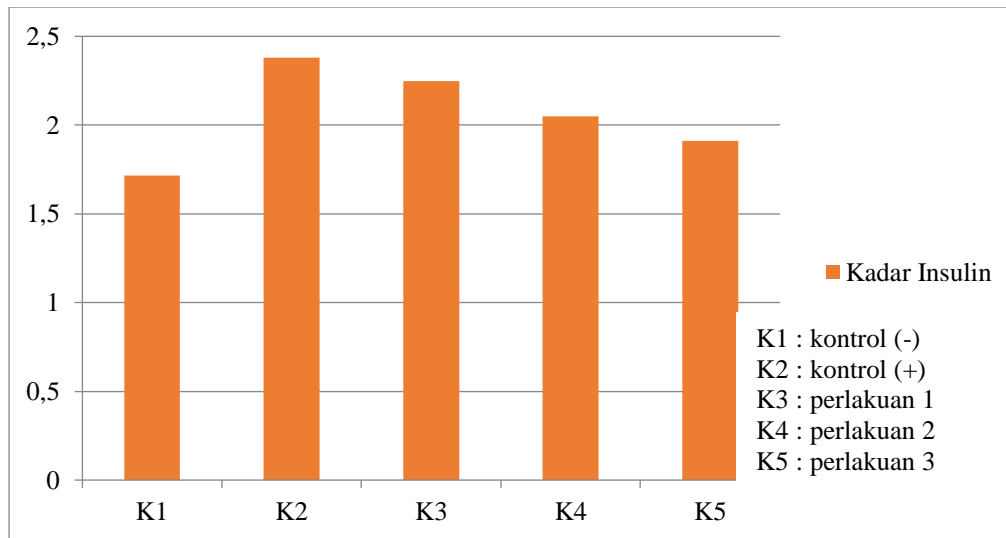
Hasil pengukuran kadar insulin menggunakan pemeriksaan ELISA pada intrakardial tikus *Rattus norvegicus* kelompok kontrol dan perlakuan dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Rerata kadar insulin

Sampel	Kelompok				
	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄	K ₅
1	1,667	2,315	2,081	1,909	2,234
2	1,649	2,108	2,568	2,099	2,009
3	1,658	2,054	2,288	1,829	1,874
4	1,757	2,694	2,450	2,667	1,946
5	1,829	2,432	1,982	2,216	1,856
6	1,687	2,595	2,099	1,793	1,694
7	1,765	2,450	2,261	1,829	1,765
Rerata \pm	1,716 \pm	2,378 \pm	2,247 \pm	2,048 \pm	1,911 \pm
SD	0,068	0,237	0,210	0,315	0,177

Rerata kadar insulin pada tabel 5.1 menunjukkan bahwa rerata kadar insulin kelompok K₂ mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok K₁. Rerata kadar insulin pada semua kelompok perlakuan (K₃, K₄, K₅) mengalami peningkatan jika dibandingkan kelompok K₁ akan tetapi mengalami penurunan jika dibandingkan kelompok K₂. Rerata kadar insulin pada kelompok K₅ mengalami peningkatan paling kecil jika dibandingkan rerata kadar insulin kelompok kontrol negatif (K₁), kemudian diikuti oleh penurunan kelompok K₄ dan K₃.

Rerata kadar insulin pada tabel 5.1 di atas menunjukkan bahwa pemberian ekstrak teh hijau 200mg/kgBB 1x/hari selama 14 hari pada tikus model SOPK – Resistensi Insulin, pemberian ekstrak teh hijau 400mg/kgBB 1x/hari selama 14 hari pada tikus model SOPK – Resistensi Insulin, dan pemberian ekstrak teh hijau 800mg/kgBB 1x/hari selama 14 hari pada tikus model SOPK – Resistensi Insulin dapat menurunkan rerata kadar insulin dibandingkan dengan kelompok K₂ (kontrol positif), terutama pemberian ekstrak teh hijau 800mg/kgBB 1x/hari selama 14 hari. Hasil ini memberikan arti bahwa pemberian ekstrak teh hijau dapat menurunkan rerata kadar insulin pada tikus model SOPK – Resistensi Insulin.



Gambar 5.1 Rerata kadar insulin

Uji normalitas variabel kadar insulin menggunakan *Shapiro-Wilk*, hasil dapat dilihat pada tabel 5.2, hasil uji normalitas selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 8. Tabel 5.2 Hasil uji normalitas kadar insulin

Variabel	Nilai p
Kadar Insulin	0,03

*Distribusi normal (signifikansi $p > 0,05$)

Tabel 5.2 memberikan hasil bahwa variabel kadar insulin tidak berdistribusi normal yang ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$.

Uji homogenitas variabel kadar insulin menggunakan uji Bartlett, hasil dapat dilihat pada tabel 5.3, hasil uji homogenitas selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 5.3 Hasil uji homogenitas kadar insulin

Variabel	Nilai p
Kadar Insulin	0,03

*Data homogen (signifikansi $p > 0,05$)

Tabel 5.3 memberikan hasil bahwa variabel kadar insulin tidak homogen ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$.

Data kadar insulin tidak berdistribusi normal dan tidak homogen, sehingga uji analisis yang digunakan adalah uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* sebagai uji analisis varian dan uji *Bonferroni* sebagai uji *Post hoc* yang bertujuan untuk mengetahui beda

antar kelompok variabel kadar insulin. Hasil uji *Kruskal-Wallis* dapat dilihat pada tabel 5.4, hasil uji *Kruskal-Wallis* selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 5.4 Hasil uji *Kruskal-Wallis* kadar insulin

Variabel	Nilai p
Kadar Insulin	0,0001*

*Berbeda bermakna (signifikansi $p < 0,05$)

Tabel 5.4 diperoleh hasil bahwa variabel kadar insulin memiliki nilai $p < 0,05$, hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna kadar insulin antar kelompok (K_1, K_2, K_3, K_4, K_5)

Uji *Post hoc Bonferroni* dilakukan setelah uji *Kruskal-Wallis* yang bertujuan untuk mengetahui kadar insulin antar kelompok yang berbeda. Hasil uji *Post hoc Bonferroni* dapat dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Hasil uji *Post hoc Bonferroni* kadar insulin

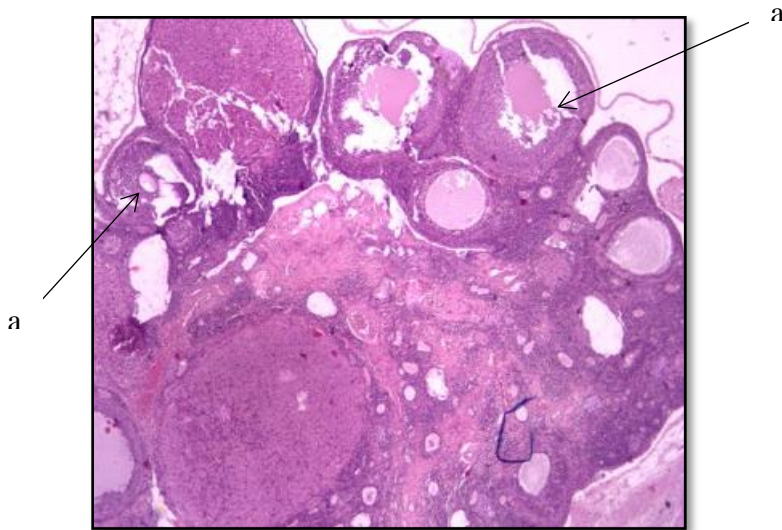
Kelompok	K_1	K_2	K_3	K_4
K_2	0,006*	-	-	-
K_3	0,006*	1,000	-	-
K_4	0,048*	0,550	1,000	-
K_5	0,069	0,023*	0,069	1,000

*Berbeda bermakna (signifikansi $p < 0,05$)

Hasil uji *Post hoc Bonferroni* untuk variabel kadar insulin pada tabel 5.5 menunjukkan bahwa kadar insulin yang berbeda bermakna dengan nilai $p < 0,05$ adalah pada kelompok K_1 dengan kelompok K_2 , kelompok K_1 dengan kelompok K_3 , kelompok K_1 dengan kelompok K_4 , kelompok K_2 dengan kelompok K_5 . Kadar insulin yang berbeda bermakna antara kelompok perlakuan (K_3, K_4, K_5) dengan kelompok kontrol positif (K_2) adalah kelompok K_2 dengan kelompok K_5 . Kelompok kontrol positif (K_2) dengan kelompok K_3 dan K_4 terjadi penurunan kadar insulin secara tidak bermakna dengan nilai $p > 0,05$.

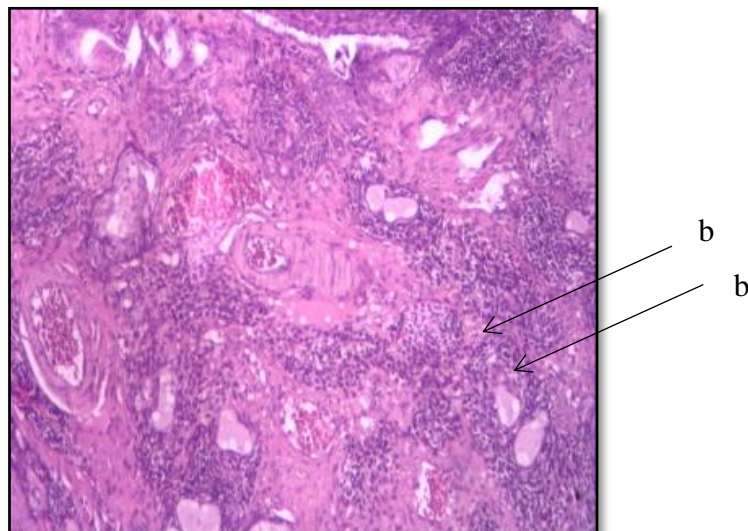
5.2 Pengaruh Ekstrak Teh Hijau terhadap Folikulogenesis Tikus Model SOPK – Resistensi Insulin

Pengukuran secara histologi folikel primer, sekunder, tersier, dan de Graaf pada ovarium kanan dan kiri tikus putih *Rattus norvegicus* di bawah mikroskop menggunakan mikrometer dapat dilihat pada gambar 5.2.



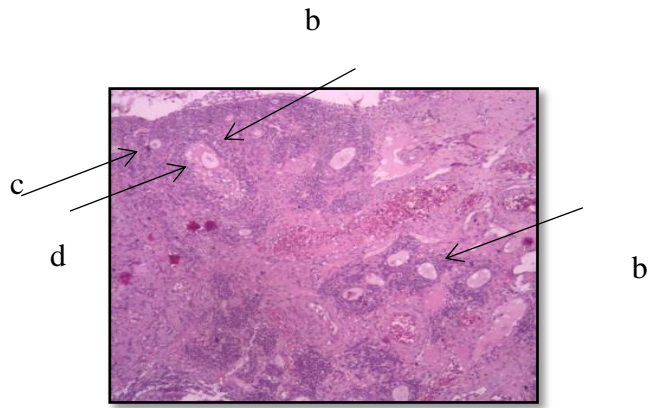
Gambar 5.2 Gambaran histologi folikel ovarium tikus kelompok 1 pada pembesaran 100x dengan mikroskop cahaya

Histologi folikel ovarium kelompok kontrol negatif 5.2 menunjukkan masih terdapat folikel de Graaf (a) karena kelompok ini tidak diberikan injeksi TP maupun terapi teh hijau.



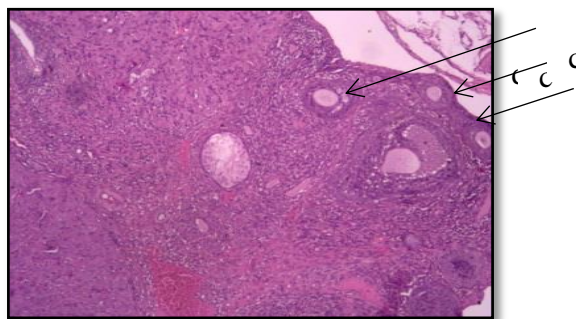
Gambar 5.3 Gambaran histologi folikel ovarium tikus kelompok 2 pada pembesaran 100x dengan mikroskop cahaya

Histologi folikel ovarium kelompok kontrol positif 5.3 menunjukkan banyak folikel atresia (b) karena pada kelompok ini diberikan TP yang membuat tikus menjadi SOPK – RI.



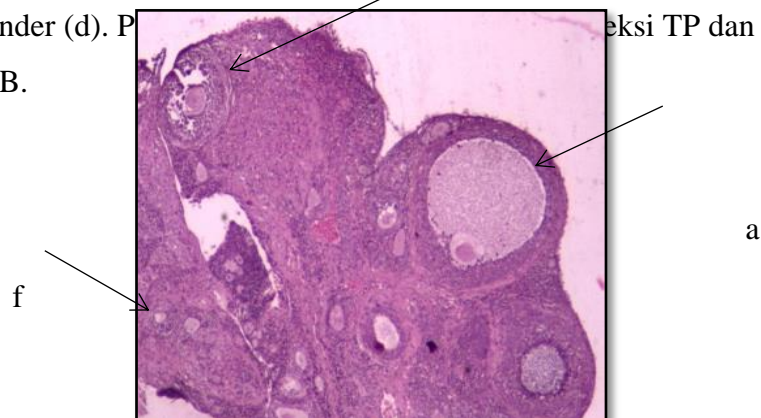
Gambar 5.4 Gambaran histologi folikel ovarium tikus kelompok 3 pada pembesaran 100x dengan mikroskop cahaya

Histologi folikel ovarium kelompok 3 menunjukkan banyak folikel atresia (b), terdapat folikel primer (c), folikel sekunder (d). Pada kelompok ini tikus mendapat injeksi TP dan terapi teh hijau 200mg/kgBB.



Gambar 5.5 Gambaran histologi folikel ovarium tikus kelompok 4 pada pembesaran 100x dengan mikroskop cahaya

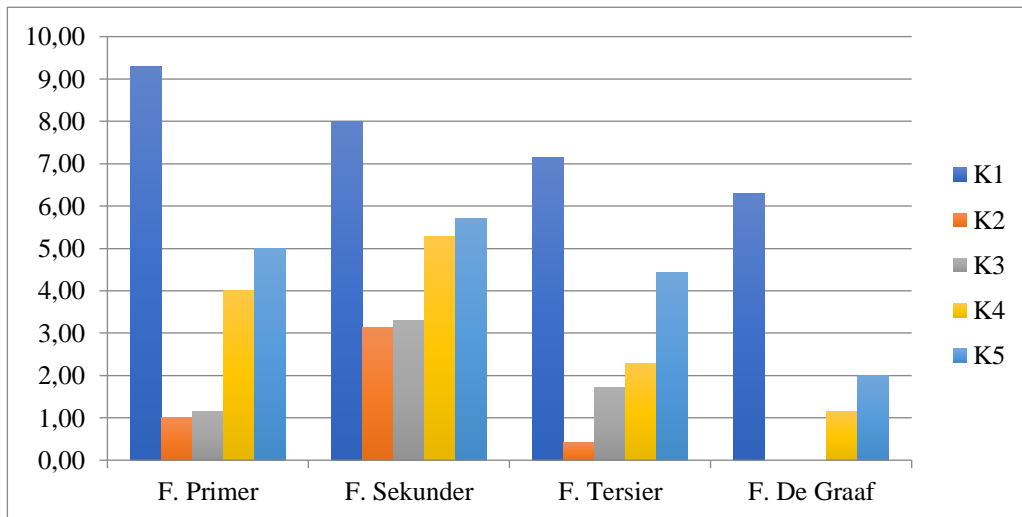
Histologi folikel ovarium kelompok 4 menunjukkan adanya folikel primer (c), folikel sekunder (d). Pada kelompok ini tikus mendapat injeksi TP dan terapi teh hijau 400mg/kgBB.



Gambar 5.6 Gambaran histologi folikel ovarium tikus kelompok 4 pada pembesaran 100x dengan mikroskop cahaya

Histologi folikel ovarium kelompok 5 menunjukkan terdapat folikel de Graaf (a), folikel primordial (f), dan folikel sekunder (e). Pada kelompok ini tikus mendapat injeksi TP dan terapi teh hijau 800mg/kgBB.

Rerata jumlah folikel (primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) kedua ovarium setiap tikus pada masing –masing kelompok K₁, K₂, K₃, K₄, K₅ dapat dilihat pada gambar 5.7.



Gambar 5.7 Grafik rerata jumlah folikel (primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) kedua ovarium setiap tikus pada masing –masing kelompok K₁, K₂, K₃, K₄, K₅.

Rerata jumlah folikel (primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) pada gambar 5.7 dalam grafik menunjukkan bahwa rerata jumlah folikel kelompok K₂ (kontrol positif) mengalami penurunan dibandingkan dengan K₁ (kontrol negatif). Rerata jumlah folikel (primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) pada semua kelompok perlakuan (K₃, K₄, K₅) mengalami penurunan dibandingkan K₁ (kontrol negatif) akan tetapi mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok K₂ (kontrol positif). Rerata jumlah folikel (primordial, primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) pada kelompok K₅ mengalami penurunan paling kecil terhadap K₁ (kontrol negatif) kemudian diikuti oleh penurunan kelompok K₄ dan K₃.

Rerata jumlah folikel (primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) pada grafik di atas menunjukkan bahwa pemberian ekstrak teh hijau 200mg/kgBB 1x/hari selama 14 hari pada tikus model SOPK – Resistensi Insulin, pemberian ekstrak teh hijau 400mg/kgBB 1x/hari selama 14 hari pada tikus model SOPK – Resistensi Insulin, dan pemberian

ekstrak teh hijau 800mg/kgBB 1x/hari selama 14 hari pada tikus model SOPK – Resistensi Insulin dapat meningkatkan rerata jumlah folikel (primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) dibandingkan kelompok kontrol positif (K₂). Artinya pemberian ekstrak teh hijau pada tikus model SOPK – Resistensi Insulin dapat meningkatkan rerata jumlah folikel (primer, sekunder, tersier, dan de Graaf).

Uji normalitas variabel folikulogenesis menggunakan *Shapiro-Wilk*, distribusi dikatakan normal apabila nilai $p > 0,05$. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.6, hasil uji normalitas selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 5.6 Hasil uji normalitas folikel primer, sekunder, tersier, dan de Graaf

Variabel	Nilai p
Folikel primer	0,002
Folikel sekunder	0,005
Folikel tersier	0,002
Folikel de Graaf	0,001

*Distribusi normal (signifikansi $p > 0,05$)

Tabel 5.6, memberikan hasil bahwa variabel folikulogenesis yang terdiri dari folikel (primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) berdistribusi tidak normal dengan nilai $p < 0,05$.

Uji homogenitas variabel folikulogenesis menggunakan uji *Bartlett*, dikatakan homogen jika nilai $p > 0,05$. Hasil dapat dilihat pada tabel 5.7, hasil uji homogenitas selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 5.7 Hasil uji homogenitas folikel primordial, primer, sekunder, tersier, dan de Graaf

Variabel	Nilai p
Folikel primer	0,002
Folikel sekunder	0,048
Folikel tersier	0,005
Folikel de Graaf	0,000

*Data homogen (signifikansi $p > 0,05$)

Tabel 5.7, diperoleh hasil bahwa variabel folikulogenesis yang terdiri dari folikel (primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) tidak homogen dengan nilai $p < 0,05$.

Data variabel folikulogenesis yang terdiri dari folikel (primer, sekunder, tersier, dan de Graaf) berdistribusi tidak normal dan tidak homogen, sehingga uji analisis yang

digunakan adalah uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* sebagai uji analisis varian dan uji *Bonferroni* sebagai uji *Post hoc* yang bertujuan untuk mengetahui beda antar kelompok variabel folikulogenesis. Hasil uji *Kruskal-Wallis* dapat dilihat pada tabel 5.8, hasil uji *Kruskal-Wallis* selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 5.8 Hasil uji *Kruskal-Wallis* folikel primordial, primer, sekunder, tersier, dan de Graaf

Variabel	Nilai p
Folikel primer	0,000*
Folikel sekunder	0,000*
Folikel tersier	0,000*
Folikel de Graaf	0,000*

*Berbeda bermakna (signifikansi $p < 0,05$)

Tabel 5.8, diperoleh hasil bahwa variabel folikulogenesis memiliki signifikansi nilai $p < 0,05$, hal ini berarti bahwa ada perbedaan yang bermakna pada folikulogenesis antar kelompok (K_1 , K_2 , K_3 , K_4 , dan K_5).

Uji *Post hoc Bonferroni* dilakukan setelah uji *Kruskal-Wallis* yang bertujuan untuk mengetahui folikulogenesis antar kelompok yang berbeda. Hasil uji *Post hoc Bonferroni* dapat dilihat pada tabel-tabel berikut ini.

Tabel 5.9 Hasil uji *Post hoc Bonferroni* folikel primer

Kelompok	K_1	K_2	K_3	K_4
K_2	0,019*	-	-	-
K_3	0,019*	1,00	-	-
K_4	0,020*	0,042*	0,059	-
K_5	0,019*	0,019*	0,019*	1,000

* berbeda bermakna (signifikansi $p < 0,05$)

Hasil uji *Post hoc Bonferroni* untuk variabel folikulogenesis (folikel primer) pada tabel 5.9 menunjukkan bahwa folikel primer yang berbeda bermakna dengan nilai $P < 0,05$ adalah pada kelompok K_1 dengan kelompok K_2 , K_3 , K_4 , K_5 , kelompok K_2 dengan kelompok K_4 , kelompok K_2 dengan kelompok K_5 , kelompok K_3 dengan kelompok K_5 . Rerata jumlah folikel primer yang berbeda bermakna antara kelompok perlakuan (K_3 , K_4 , dan K_5) dengan kelompok kontrol positif (K_2) adalah kelompok K_5 diikuti dengan kelompok K_4 . Kelompok kontrol positif (K_2) dengan kelompok K_3 terjadi peningkatan rerata jumlah folikel primer secara tidak signifikan dengan nilai $p > 0,05$.

Tabel 5.10 Hasil uji *Post hoc Bonferroni* folikel sekunder

Kelompok	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄
K ₂	0,020*	-	-	-
K ₃	0,020*	1,000	-	-
K ₄	0,281	1,000	0,757	-
K ₅	0,229	0,090	0,051	1,000

* berbeda bermakna (signifikansi $p < 0,05$)

Hasil uji *Post hoc Bonferroni* untuk variabel folikulogenesis (folikel sekunder) pada tabel 5.10 menunjukkan bahwa folikel sekunder yang berbeda bermakna dengan nilai $P < 0,05$ adalah pada kelompok K₁ dengan kelompok K₂, kelompok K₁ dengan kelompok K₃. Rerata jumlah folikel sekunder yang berbeda bermakna antara kelompok perlakuan (K₃, K₄, dan K₅) dengan kelompok kontrol positif (K₂) adalah tidak ada.

Tabel 5.11 Hasil uji *Post hoc Bonferroni* folikel tersier

Kelompok	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄
K ₂	0,018*	-	-	-
K ₃	0,019*	0,083	-	-
K ₄	0,018*	0,029*	1,000	-
K ₅	0,270	0,017*	0,028*	0,105

* berbeda bermakna (signifikansi $p < 0,05$)

Hasil uji *Post hoc Bonferroni* untuk variabel folikulogenesis (folikel tersier) pada tabel 5.11 menunjukkan bahwa folikel tersier yang berbeda bermakna dengan nilai $P < 0,05$ adalah pada kelompok K₁ dengan kelompok K₂, K₃, dan K₄, kelompok K₂ dengan kelompok K₄, kelompok K₂ dengan kelompok K₅, kelompok K₃ dengan kelompok K₅. Rerata jumlah folikel tersier yang berbeda bermakna antara kelompok perlakuan (K₃, K₄, dan K₅) dengan kelompok kontrol positif (K₂) adalah kelompok K₅ diikuti dengan kelompok K₄. Kelompok kontrol positif (K₂) dengan kelompok K₃ terjadi peningkatan rerata jumlah folikel tersier secara tidak signifikan dengan nilai $p > 0,05$.

Tabel 5.12 Hasil uji *Post hoc Bonferroni* folikel de Graaf

Kelompok	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄
K ₂	0,009*	-	-	-
K ₃	0,009*	-	-	-
K ₄	0,018*	0,108	0,108	-
K ₅	0,018*	0,009*	0,009*	1,000

* berbeda bermakna (signifikansi $p < 0,05$)

Hasil uji *Post hoc Bonferroni* untuk variabel folikulogenesis (folikel de Graaf) pada tabel 5.12 menunjukkan bahwa folikel de Graaf yang berbeda bermakna dengan nilai $P < 0,05$ adalah pada kelompok K₁ dengan kelompok K₂, K₃, K₄, dan K₅, kelompok

K₂ dengan kelompok K₅, kelompok K₃ dengan kelompok K₅. Rerata jumlah folikel tersier yang berbeda bermakna antara kelompok perlakuan (K₃, K₄, dan K₅) dengan kelompok kontrol positif (K₂) adalah kelompok K₅. Kelompok kontrol positif (K₂) dengan kelompok K₃ tidak terjadi peningkatan maupun penurunan rerata jumlah folikel de Graaf. Kelompok kontrol positif (K₂) dengan kelompok K₄ terjadi peningkatan rerata jumlah folikel de Graaf secara tidak signifikan dengan nilai $p > 0,05$.

6.1 Kadar Insulin

Penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar insulin pada tikus yang diinjeksi Testosteron Propionat (TP) sebanyak 1 mg/100gBB secara intra muskular selama 28 hari, ini dibuktikan dengan kadar insulin pada kelompok kontrol positif (K₂) mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K₁). Androgen secara langsung atau tidak langsung berperan dalam metabolisme glukosa menyebabkan kondisi hiperinsulinemia. Androgen secara langsung menghambat kerja insulin di perifer maupun di hepar, androgen secara tidak langsung mempengaruhi sensitifitas insulin dengan mengubah komposisi tubuh (Volpi, 2005).

Androgen (testosteron) menyebabkan resistensi insulin dengan menurunkan jumlah dan efektifitas protein pengangkut glukosa, khususnya *glucose transporter type 4* (GLUT-4) yang bertanggung jawab terhadap pengangkutan glukosa di otot dan lemak. Testosteron memfasilitasi lipolisis dan pemecahan lemak abdomen, menyebabkan peningkatan asam lemak bebas. Peningkatan androgen dan asam lemak bebas akan menghambat ekskresi insulin di hepar dan pengangkutan glukosa di otot, serta akhirnya menyebabkan hiperinsulinemia dan resistensi insulin (Marshall, 2001; Mukherjee, 2010).

Dosis testosteron propionat dalam penelitian ini sebesar 1mg/100gBB mampu membuat tikus model SOPK mengalami resistensi insulin, ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Beloosesky (2004) yang menerangkan bahwa pemberian TP pada tikus betina dapat menghasilkan model SOPK, meliputi perubahan morfologi maupun gangguan hormonal sebagaimana SOPK pada manusia termasuk resistensi insulin. Penelitian yang dilakukan Muttaqin (2009), dimana pemberian TP dengan dosis 1 mg/100gBB selama 14 hari akan didapatkan suatu keadaan yang menyerupai SOPK dengan ciri-ciri tidak didapatkan korpus luteum, adanya ovarium polikistik, hipertekosis pada stroma serta penipisan/ atresi sel glukosa.

Pemberian TP selama 21 hari mulai didapatkan keadaan resistensi insulin. TP selama 28 hari memberikan hasil lebih bermakna terhadap keadaan resistensi insulin.

Keadaan hiperandrogen dapat mempengaruhi indeks resistensi insulin serta kadar asam lemak bebas di serum. Semakin lama paparan androgen yang diberikan, maka indeks resistensi insulin dan kadar asam lemak bebas akan meningkat.

Sarjana Polderman (1994) memaparkan bahwa pemberian injeksi testosteron esters 250 mg intra muskular tiap 2 minggu selama 4 bulan pada wanita normal dapat menyebabkan resistensi insulin. Pemberian *euglycemic hyperinsulinemic clamp* sebelum dan setelah 4 bulan didapatkan peningkatan rerata kadar insulin puasa dari 57 ± 27 pmol/L menjadi 64 ± 29 pmol/L dan rerata laju penggunaan glukosa didapatkan penurunan (Polderman, 1994).

Resistensi insulin terjadi bila kadar insulin yang normal atau meningkat menimbulkan respon biologik, yaitu terganggunya sensitifitas pengambilan glukosa yang dimediasi oleh insulin. Hiperinsulinemia terjadi karena meningkatnya sekresi sel β pankreas dan menurunnya setabolisme insulin di hepar sebagai kompensasi adanya penurunan sensitifitas insulin di perifer (Samsulhadi, 2009).

Insulin bersifat seperti hormon lainnya, bekerja melalui ikatan reseptor hormon pada permukaan membran sel dan mengaktifkan enzim *tyrosine kinase*. Aktivasi *tyrosine kinase* dipercaya sebagai mekanisme signal utama dari reseptor insulin. Rangsangan pada subunit α akan mengaktifasi *tyrosine kinase* dan menginisiasi rangkaian proses fosforilasi protein intraseluler termasuk mengaktifasi *Insulin Receptor Substrates* (IRS). IRS-1 akan mengikat *phosphatidylinositol-3-kinase* (PI3K) dan *src homology-2* (SH-2) yang diperlukan untuk sekresi protein transport glukosa yaitu GLUT-4, sehingga terjadi transport glukosa ke dalam intra sel (Salehi, 2004). Fosforilasi juga terjadi pada *Mitogen Activated Protein Kinase* (MAPK) yang berfungsi untuk pertumbuhan insulin. MAPK dapat diaktifasi tidak hanya oleh insulin tetapi juga oleh reseptor *tyrosine kinase* lainnya seperti reseptor *Insulin Growth Factor type-1* (IGF-1), *Epidermal Growth Factor* (EGF) dan *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) (Muttaqin, 2009).

5.2 Folikulogenesis

Hasi penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian 1 mg/100gBB Testosteron Propionat pada tikus betina selama 28 hari mampu menimbulkan kerusakan folikel pada ovarium sehingga rerata jumlah folikel primer, sekunder, tersier, dan de Graaf mengalami penurunan pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok

kontrol negatif sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Beloosesky (2004) yang menerangkan bahwa pemberian TP pada tikus betina dapat menghasilkan model SOPK, meliputi perubahan morfologi maupun gangguan hormonal sebagaimana SOPK pada manusia. Pemberian selama 7 hari menghasilkan gambaran ovarium berupa kista-kista folikel besar dengan penebalan stroma serta akumulasi folikel preantral berlapis.

Peningkatan apoptosis oosit mulai hari 14 pemberian testosteron menyebabkan kerusakan serius oosit di folikel preantral dan antral; suatu keadaan yang menggambarkan karakteristik SOPK pada manusia. Sampai dengan 21 hari pemberian testosteron kebanyakan oosit mengalami apoptosis mencapai 70-85% dari total oosit menyebabkan kerusakan folikel preantral dan antral sehingga tidak didapatkan corpus luteum bahkan sampai dengan 35 hari pemberian. Semakin lama pemberian testosteron propionat maka akan menyebabkan terbentuk keadaan hiperandrogen. Hasil yang sama juga diperoleh pada penelitian Muttaqin (2009), dimana pemberian TP dengan dosis 1 mg/100 gBB selama 14 hari akan didapatkan suatu keadaan yang menyerupai SOPK dengan ciri-ciri tidak didapatkan korpus luteum, adanya ovarium polikistik, hipertekosis pada stroma serta penipisan/ atresi sel glukosa.

Pemberian *dehydrotestosteron* (DHT) yaitu suatu androgen non-aromatisasi, bertujuan membuat model SOPK dengan gambaran ovarium dan metabolisme yang menyerupai SOPK pada manusia. Pada tikus betina yang mendapat DHT didapatkan siklus haid yang ireguler, gambaran ovarium seperti SOPK berupa banyak kista folikel besar dengan penebalan lapisan teka interna, atresia folikel antral dan menghilangnya sel granulosa, serta gambaran metabolisme peningkatan lemak tubuh dan berat badan, pembesaran sel adiposan maupun peningkatan kadar leptin (Manneras, 2007).

5.3 Pengaruh Pemberian Testosteron Propionat

Androgen secara langsung atau tidak, berperan dalam metabolisme glukosa menyebabkan keadaan hiperinsulinemia. Secara langsung androgen menghambat kerja insulin di otot dan hepar, sedangkan secara tidak langsung mempengaruhi sensitifitas insulin dengan mengubah komposisi tubuh melalui metabolisme lemak (Volpi, 2005). Androgen menyebabkan resistensi insulin dengan mengaktifasi proses lipolisis dan pemecahan sel lemak abdomen yang akan meningkatkan pelepasan asam lemak bebas (Pasquali, 2003).

Sarjana Marshall (2001) memaparkan bahwa hiperandrogen memberikan kontribusi besar dalam menyebabkan terjadinya resistensi insulin melalui dua cara.

Pertama, menurunkan jumlah dan efektifitas GLUT-4, sehingga terjadi gangguan pengangkutan glukosa di otot dan lemak. Cara kedua adalah dengan meningkatkan lipolisis dan pemecahan kadar asam lemak abdomen yang kemudian akan meningkatkan kadar asam lemak bebas. Peningkatan kadar asam lemak bebas inilah yang akan menurunkan klirens insulin di hepar (Marshall, 2001). Kultur otot skelet tikus yang mendapat paparan testosteron didapatkan peningkatan fosforilasi jalur *Akt-mTOR-S6K* menyebabkan peningkatan fosforilasi serin di IRS-1 sehingga terjadi inaktivasi IRS-1 dan gangguan pengangkutan glukosa (Allemand, 2005). Dapat disimpulkan bahwa efek fosforilasi serin berakibat pada penurunan transpor glukosa dan menimbulkan keadaan hiperinsulinemia, di sisi lain fosforilasi serin juga berakibat pada peningkatan *P450c17a* dan *17,20 lyase* yang mengakibatkan peningkatan DHES di adrenal serta peningkatan androstenedion dan testosteron di ovarium (Balen, 2005; Salehi, 2004).

5.4 Pengaruh Pemberian Teh Hijau

Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak teh hijau 200 mg/kgBB selama 14 hari terhadap tikus model SOPK – RI tidak menurunkan kadar insulin dan tidak meningkatkan rerata jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier. Pemberian ekstrak teh hijau 400 mg/kgBB selama 14 hari terhadap tikus model SOPK – RI tidak menurunkan kadar insulin dan tidak meningkatkan rerata jumlah folikel sekunder dan folikel de Graaf, tetapi dapat meningkatkan rerata jumlah folikel primer dan folikel tersier. Pemberian ekstrak teh hijau 800 mg/kgBB selama 14 hari terhadap tikus model SOPK – RI dapat menurunkan kadar insulin dan meningkatkan rerata jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, dan folikel de Graaf.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Haidari, dkk (2013) yang bertujuan mengevaluasi efek ekstrak teh hijau pada level glukosa serum menunjukkan bahwa ekstrak teh hijau dengan dosis 200 mg/kgBB secara signifikan mampu menurunkan level glukosa serum. Hasil penelitian Haidari dan penelitian ini menunjukkan hasil bahwa ekstrak teh hijau dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah dan kadar insulin secara signifikan.

Penelitian oleh Kusumastuty, Aulanni'am, dan Ratnawati (2010) pemberian *Epigallocatechin gallate* (EGCG) yang merupakan hasil isolasi dan purifikasi teh hijau dengan tujuan penelitian untuk membuktikan pengaruh zat tersebut dalam menghambat resistensi insulin terhadap hewan coba tikus dengan dosis 8 mg/kgBB/hari yang

diberikan dalam 60 hari menunjukkan hasil bahwa isolat EGCG mampu menghambat resistensi insulin yang ditunjukkan dengan penghambatan peningkatan p38 MAPK dan penurunan p110 PI3K.

Pemberian ekstrak teh hijau 800 mg/KgBB selama 14 hari terhadap tikus model SOPK – RI dapat menurunkan kadar insulin dan meningkatkan rerata jumlah folikel primordial, folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, dan folikel de Graaf secara signifikan. Penurunan resistensi insulin diduga mampu memperbaiki keadaan sehingga folikel kembali terstimulasi oleh FSH dan tidak tertekan oleh LH. Penurunan insulin diduga terjadi karena *catechin* yang merupakan flavonol utama yang terutama terdiri dari *Epigallocatechin gallate* (EGCG), *Epigallocatechin* (EGC), *Epicatechin gallate* (ECG), dan *Epicatechin* (EC) dapat diserap oleh sel melalui GLUT-4 yang merupakan efektor terbesar dari homeostasis *glychemic insulin mediated* yang terekspresi di sel adiposit dan sel otot. Kerja EGCG diharapkan dapat menghambat resistensi insulin dengan menghambat penurunan PI3K dan menghambat peningkatan MAPK sehingga terjadi peningkatan translokasi GLUT-4.

GLUT-4 (*glucose transporter 4*) adalah protein transpor untuk glukosa yang bertujuan membawa glukosa masuk ke dalam sel. Proses translokasi GLUT-4 ke permukaan sel target diawali dengan ikatan insulin dan reseptor insulin subunit α dimana ikatan tersebut menyebabkan subunit β dari reseptor insulin dan substrat lain yaitu Insulin Receptor Substrate-1 (IRS-1) mengadakan autofosforilasi. IRS-1 mengaktifkan *phosphatidylinositol-3-kinase* (PI3K) yang memediasi translokasi GLUT-4 ke permukaan sel target (Kirtishanti, 2009). Peningkatan translokasi GLUT-4 menyebabkan uptake glukosa dari ekstra sel ke dalam intra sel juga meningkat. Peningkatan uptake glukosa memperbaiki kondisi resistensi insulin.

Penurunan resistensi insulin di jaringan perifer akan merangsang penurunan produksi androgen di ovarium. Kadar insulin yang turun akan meningkatkan kadar *Sex Hormon Binding Globulin* (SHBG) sehingga androgen bebas menurun. Penurunan androgen akan mempengaruhi lingkungan ovarium, gangguan sistem aromatisasi androgen menjadi estrogen yang memicu terjadinya atresia folikel lebih dini tidak terjadi. Penurunan resistensi insulin pada hepar juga akan meningkatkan kadar *insulin-like growth factor-binding protein tipe 1* (IGFBP-1) sehingga IGF juga mengalami penurunan. IGF bekerja pada sel teka untuk meningkatkan respon terhadap LH. Rangsangan reseptor IGF oleh insulin akan meningkatkan produksi androgen pada sel teka. Penurunan kadar IGF akan menurunkan produksi androgen pada sel teka, respon

terhadap LH juga mengalami penurunan dan terjadi perbaikan pada folikulogenesis (atresia dini tidak terjadi).

Kekurangan penelitian ini menggunakan aquades sebagai terapi pada kelompok kontrol negatif dan positif, sebaiknya apabila pelarut pada kelompok perlakuan menggunakan CMC maka kelompok kontrol juga menggunakan CMC. Kekurangan yang lain adalah pada perlakuan hewan coba yaitu kelompok kontrol negatif tidak diinjeksi TP sehingga tingkat stresnya berbeda dengan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan.

BAB 6

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

- 1) Pemberian ekstrak teh hijau dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB tidak menurunkan kadar insulin pada tikus model SOPK – resistensi insulin tetapi pada dosis 800 mg/kgBB dapat menurunkan kadar insulin pada tikus model SOPK – resistensi insulin.
- 2) Pemberian ekstrak teh hijau dosis 400 mg/kgBB dapat meningkatkan rerata jumlah folikel primer dan folikel tersier pada tikus model SOPK – resistensi insulin, sedangkan pemberian ekstrak teh hijau 800 mg/kgBB pada tikus model SOPK – resistensi insulin dapat meningkatkan rerata jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, dan folikel de Graaf pada tikus model SOPK – resistensi insulin.

6.2 Saran

- 1) Perlu penelitian terhadap pemeriksaan ekspresi GLUT-4 yang merupakan efektor terbesar dari homeostasis *insulin mediated* glikemik yang terekspresi di sel adiposit dan sel otot.
- 2) Perlu penelitian terhadap pemeriksaan kadar LH dan FSH setelah diberi perlakuan ekstrak teh hijau untuk mengetahui secara pasti adanya perbaikan kondisi hiperandrogen.
- 3) Perlu penelitian terhadap pemeriksaan kadar SHBG dan androgen setelah diberi perlakuan ekstrak teh hijau untuk mengetahui secara pasti adanya perbaikan kondisi hiperandrogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Sari, N, 2013, Faktor-faktor yang mempengaruhi pengetahuan pasangan usia subur tentang infertilitas di yayasan klinik bersalin Hj.Darnelis Zam Darussalam Banda Aceh,Stikes U'budiyah, Banda Aceh
- Fausser, BCJM, Tarlatzis, BC, Rebar, RW, Legro, RS, Balen, AH, Lobo, R, Carmina, E, Chang, J, Yildiz, BO, Laven, JSE, Boivin, J, Petraglia, F, Wijeyeratne, CN, Norman, RJ, Dunaif, A, Franks, S, Wild, RA, Dumesic, D, Barnhart, K, 2012, 'Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group', *Fertility and Sterility*, Vol. 97, No.1, pp 28
- Hadibroto, Budi R, 2005, *Sindroma ovarium polikistik*, Universitas Sumatra Utara, Medan
- Rahayu, HK, 2013, Pengaruh pemberian ekstrak air sambiloto terhadap ekspresi reseptor estrogen?di ovarium dan siklus birahi pada tikus model SOPK- resistensi insulin, Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
- Rusnasari, VD, 2005, Hubungan resistensi insulin (HOMA-IR) dengan obesitas dan perubahan hormon androgen pada penderita sindroma ovarium polikistik, Universitas Diponegoro, Semarang
- Garor R, Abir R, Erman A, Feiz C, Nitke and Fish B, 2009, 'Effect of basic fibroblast growth factor on in vitro development of human ovarian primordial follicles', *Fertility and Sterility* 91 (5), pp 1967-1975
- Marshall, JC and Eagleson, CA, 1999, 'Neuroendocrine aspects of polycystic ovary syndrome', *Endocrinol Metab Clin NA*, 28(2): 295-324
- Mukherjee, S, Maitra, A 2010 'Molecular & genetic factors contributing to insulin resistance in polycystic ovary syndrome', *Indian J Med Res*, Vol 131, pp 743-760
- Velayutham, P, Babu, A, Liu, D, 2008, 'Green tea catechins and cardiovascular' health: an update', *Curr Med Chem*, 15 (18) : 1840-1850
- Mawarti, H, Ratnawati, H, Lyrawati, D, 2012, 'Epigallocatechin gallate menghambat resistensi insulin pada tikus dengan diet tinggi lemak', *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol.27, No. 1, Hlm. 43-48
- Haidari, F, Omidian, K, Rafiei, H, Zarei, M, Shahi, M, 2013, 'Green tea (*Camellia sinensis*) supplementation to diabetic rats improves serum and hepatic oxidative stress markers', *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, Vol.12 (1) : 109-114
- Kusumastuty, I, Aulanni'am, Ratnawati, R, 2010, 'Epigallocatechin gallate teh hijau klon GMB4 menghambat resistensi insulin akibat diet tinggi lemak pada tikus', *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol.26, No.2

LAMPIRAN

LAPORAN KEUANGAN

JenisPerlengkapan	Volume	HargaSatuan	Nilai(Rp)
		(Rp)	
Biaya penelitian	1	Rp500.000	Rp500.000
Biaya kerja sama IBI Ranting	1	Rp700.000	Rp700.000
Kertas A4 (80 gram)	4 rim	Rp50.000	Rp200.000
Tinta printer isi ulang	4 botol	Rp50.000	Rp200.000
Pembelian mencit	35 ekor	Rp30.000	Rp1.050.000
Perawatan mencit	30 hari x 50 ekor	Rp5.000	Rp7.500.000
Pembelian reagen greean estrak	100 ml	Rp200.000	Rp200.000
Biaya intervensi	35 ekor	Rp30.000	Rp1.050.000
penyuntikan ke mencit	2 x 50 mencit	Rp5.000	Rp1.500.000
penentuan fase estrus	35 ekor	Rp20.000	Rp700.000
Penggandaan dan penjilidan proposal, literatur jurnal dan laporan	2	Rp200.000	Rp200.000
Transportasi	Selama penelitian	Rp300.000	Rp300.000
Konsumsi	Selama penelitian	Rp400.000	Rp400.000
Publikasi jurnal	1 paket	Rp1.000.000	Rp1.000.000
Total			Rp15.500.000