

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Induksi Laserpunktur Terhadap Kadar Hormon LH (*Leuteizing Hormone*) pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Leuteizing hormone merupakan hormon yang diproduksi oleh hipofisis anterior. *Leuteizing hormone* berperan dalam memicu ovulasi dan *feedback* positif dari estrogen saat LH berikatan dengan reseptornya. Hasil kadar LH pada tikus (*Rattus norvegicus*) betina pasca induksi laserpunktur didapatkan dengan cara menguji menggunakan *ELISA kit* dengan prinsip *Sandwich-Elisa* (**Lampiran 4**). Hasil analisa lanjutan dari kadar LH induksi laserpunktur dan kontrol dilanjutkan dengan melakukan uji T tidak berpasangan (*Independent sample T test*), dari hasil tersebut menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok tikus A kontrol dengan kelompok tikus B induksi laserpunktur

Tabel 5.1 Rata-rata Kadar LH

Kelompok Tikus	Rata-rata kadar LH \pm SD (mIU/mL)	Presentase kenaikan LH (%)
A (Tikus Kontrol)	6,008 \pm 0,615	-
B (Tikus Induksi Laserpunktur)	10,284 \pm 0,850*	71,17%

Keterangan: Tanda (*) menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok perlakuan

Hasil analisa dari kadar hormon LH induksi dan kontrol dilanjutkan dengan melakukan uji T tidak berpasangan (*Independent sample T test*) (**lampiran 8**), dari hasil tersebut menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antar perlakuan. Hasil ini membuktikan bahwa , induksi laserpunktur pada titik reproduksi tikus betina dapat meningkatkan kadar hormon LH sebesar 71,17%.

Pada kelompok tikus A kontrol, kadar LH rata-rata sebesar 6,008 mIU/mL lebih rendah dibandingkan dengan kelompok B. Pada kelompok A pada fase diestrus tanpa adanya induksi laserpunktur, secara normal setelah 24 jam kelompok tikus A masih dalam fase diestrus. Fase diestrus pada tikus terjadi selama 57 jam, sehingga setelah 24 jam kemudian belum terjadi perubahan fase dari fase diestrus. Pada fase diestrus terdapat korpus luteum yang menghasilkan progesteron yang tinggi. Hal ini menyebabkan terjadinya umpan balik negatif pada hipotalamus sehingga GnRh tidak diproduksi tinggi. *Gonadotrophin Releasing Hormone* yang rendah mengakibatkan FSH dan LH tidak disekresikan. Sehingga pada kelompok kontrol memiliki kadar LH yang rendah karena pengaruh GnRH.

Peningkatan kadar hormon LH pada kelompok tikus B induksi laserpunktur disebabkan oleh adanya biostimulasi secara spontan pada jaringan biologi terutama jaringan sistem syaraf. Induksi laserpunktur pada titik akupunktur menimbulkan energi gelombang elektromagnetik dari sinar laser yang menembus jaringan kulit dan mengenai ujung syaraf perifer kemudian diterima oleh sel signaling serta berikatan dengan reseptor pada membran sel membentuk kompleks ligand-reseptor untuk mengaktifkan Protein G subunit α (Palaniapan, 2010).

Rangsangan energi menyebabkan protein G subunit α mengalami fosforilasi untuk mengaktifkan enzim fosfolipase C (PLC). Enzim Fosfolipase C akan menghidrolisa fosfotidil inositol bifosfat (PIP₂) menghasilkan inositol trifosfat (IP₃) dan diasilgliserol (DAG) berperan dalam transduksi signal sebagai *second messenger*. Dalam sitosol IP₃ akan berikatan dengan reseptor pada RE untuk

menstimulasi pelepasan Ca^{2+} ke sitosol sehingga kadar Ca^{2+} meningkat pada intraseluler. Diasilgliserol memiliki peran dalam signaling, DAG bersama dengan Ca^{2+} mengaktifkan protein kinase C (PKC) yang berperan dalam signaling dalam pelepasan neurotransmitter. Jalur aktivasi seluler ini dikenal sebagai jalur metabotropik (Kusuma, 2013).

Selain jalur metabotropik induksi laserpunktur pada titik akupunktur reproduksi dapat juga melalui jalur ionotropik. Gelombang elektromagnetik sinar laser diubah menjadi sinyal listrik. Sinyal listrik yang ditimbulkan oleh paparan laserpunktur akan menyebabkan depolarisasi membran sel saraf. Depolarisasi membran sel syaraf akan menyebabkan potensial aksi sehingga membran selsaraf akan merespon dengan terbukanya saluran ion Ca^{2+} ekstraseluler. Ca^{2+} ekstraseluler akan masuk melalui *calcium sensing resptor* (CaSR) atau melalui *voltage-gated Ca^{2+} channels* (VGACC). Akibat masuknya Ca^{2+} ekstraseluler ini akan bertemu dengan gelembung sinaptik dan membran sinaptik akan terbuka untuk melepaskan neurotransmitter ke celah sinaptik dengan cara eksositosis selanjutnya akan ditangkap oleh reseptor postsinap. Apabila ikatan reseptor dengan neurotransmitter berikatan maka impuls/rangsang akan dilanjutkan sampai menuju otak.

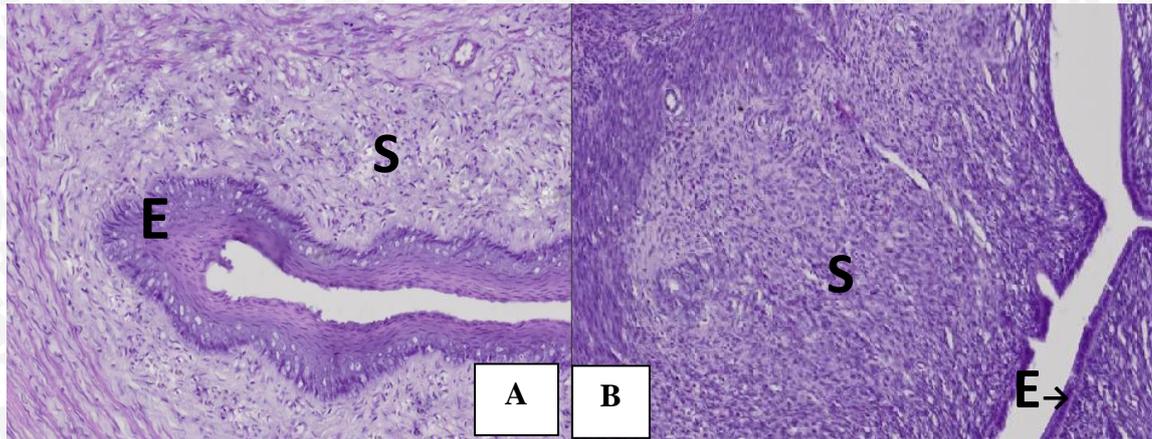
Pada otak kemudian akan menimbulkan reaksi berantai seperti merangsang PKC untuk mengaktifkan enzim GAD. *Glutamic acid decarboxylase* yang aktif akan merangsang GABAergic untuk mensintesis GABA. Kemudian GABA akan merangsang neuron GnRH di hipotalamus untuk melepas GnRH yang akan

merangsang pelepasan hormon gonadotropin LH dan FSH (Gingrich and Patterson, 2007).

Induksi laserpunktur memberikan daya stimulasi yang spontan dan cepat pada hipotalamus menyebabkan meningkatnya sekresi dari FSH dan LH. Pengaruh peningkatan sekresi *Gonado Releasing Hormone* (GnRH) menyebabkan terjadinya peningkatan sekresi *Luteinizing Hormone* (LH) dan *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) dari kelenjar pituitari anterior. Laserpunktur yang diinduksikan pada titik reproduksi akan menimbulkan daya stimulasi yang cepat dan spontan mampu meningkatkan sekresi *Luteinizing Hormone* (LH) dari pituitari anterior.

5.2 Pengaruh Induksi Laserpunktur Terhadap Histologi Endometrium pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina

Endometrium merupakan jaringan dinamik yang merespon hormon yang beredar sepanjang siklus estrus (Giudice, 2006). Pada induksi laserpunktur pada tikus betina (*Rattus norvegicus*), pengamatan histologi endometrium tikus (*Rattus norvegicus*) betina dilakukan dengan bantuan mikroskop cahaya 400x. Pengamatan dilakukan antar kelompok perlakuan dan dianalisa secara diskriptif.



Gambar 5.1 Histologi endometrium tikus (*Rattus norvegicus*) betina dengan pewarnaan HE dan perbesaran 400x.

Keterangan : (A) Kelompok kontrol, (B) Kelompok Induksi Laserpunktur, (S) menunjukkan jaringan stromal, (E) menunjukkan jaringan epitel

Hasil pengamatan histologi endometrium tikus (*Rattus norvegicus*) betina pada kelompok kontrol (A), pada bagian epitel mengalami penebalan dan ditandai adanya sel mitotik. Hal ini dikarenakan pada kelompok kontrol setelah 24 jam pada fase diestrus masih dalam kondisi diestrus. Penebalan pada bagian epitel endometrium disebabkan karena pada sel epitel endometrium terdapat reseptor progesteron. Pada fase diestrus, ovarium memiliki corpus luteum yang menghasilkan banyak progesteron. Progesteron yang dihasilkan akan diterima oleh reseptor progesteron yang ada pada endometrium terutama pada bagian epitel. Kemudian epitel akan merespon dengan yang mengalami mitotik sehingga terjadi penebalan pada bagian epitel. Sedangkan pada bagian stromal tidak memiliki reseptor progesteron sehingga tidak terjadi penebalan.

Hasil pengamatan histologi Hasil pengamatan histologi endometrium tikus (*Rattus norvegicus*) betina pada kelompok induksi laserpunktur(B), terjadi penebalan pada bagian stromal, penebalan berupa penambahan jumlah dari sel polinuklear dan infiltrasi lamina propia serta glandula endometrium, lamina propia

mengandung banyak sel yang menyerupai jaringan mesenkim atau berbentuk seperti spon, sedangkan pada bagian epitel berbentuk kolumnar epitel. Hal ini dikarenakan pada kelompok induksi laserpunktur pada fase diestrus setelah 24 jam terjadi perubahan fase yang cepat setelah fase diestrus menjadi fase estrus.

Induksi laserpunktur pada kelompok induksi membuktikan bahwa terjadi percepatan siklus estrus yang ditandai adanya perubahan ketebalan pada bagian stromal endometrium. Stromal mengalami penebalan karena merespon adanya peningkatan hormon estrogen. Laserpunktur yang diinduksikan memiliki daya stimulasi yang cepat dan spontan. Laser yang disinarkan ke permukaan kulit menembus lapisan epidermis dan dermis yang selanjutnya menimbulkan rangsang. Rangsang induksi laserpunktur berupa energi gelombang elektromagnetik melalui aktivasi seluler yaitu jalur metabotropik dan ionotropik. Rangsangan berupa impuls menuju otak akan menimbulkan reaksi berantai mengaktifkan enzim GAD-67 yang merangsang GABAergic untuk mensintesis GABA (Kusuma, 2013). Kemudian GABA akan menyampaikan respon ke pada neuron GABAergic dan neuron GnRH yang memungkinkan terjadinya pelepasan GnRH. Selanjutnya GnRH yang akan merangsang pelepasan hormon gonadotropin - LH dan FSH.

Reseptor FSH berada pada sel granulosa dan reseptor LH terdapat pada sel teka interna. Pada folikel primer terdapat sel granulosa tetapi belum terbentuk sel teka, hal ini berarti pada folikel primer hanya dapat mengekspresikan FSH. FSH yang diikat oleh sel-sel granulosa merangsang perkembangan folikel. Perkembangan ini mempengaruhi perkembangan sel granulosa sehingga folikel

semakin membesar dan juga pembentukan sel teka. Pada sel-sel granulosa FSH juga berfungsi untuk meningkatkan aktivitas enzimatik yang berguna mengkatalisa aromatisasi androgen untuk menghasilkan estrogen (Stevenson, 2007).

Penebalan pada bagian stromal pada fase estrus dipengaruhi oleh meningkatnya kadar hormon estrogen. Pada bagian stromal terdapat reseptor estrogen sehingga perubahan yang terjadi pada bagian stromal merupakan hasil regulasi dari hormon estrogen. Estrogen yang meningkat pada kondisi estrus, pada bagian endometrium akan mengakibatkan reseptor estrogen aktif. Jumlah optimal hormon estrogen akan berikatan dengan reseptor estrogen yang berada di inti dan menyebabkan reseptor estrogen aktif (Nikov *et al.*, 2000). Estrogen akan menembus permukaan sel masuk kedalam sel (sitoplasma) kemudian berikatan dengan reseptor estrogen. Sitoplasma yang membentuk ikatan hormon reseptor pada *Estrogen respon Element (ERE)* kemudian bergerak menuju inti sel berikatan dengan DNA. Reseptor estrogen yang telah berikatan dengan DNA berperan dalam proses transkripsi sel untuk membentuk protein yang diperlukan dalam pembelahan sel (Fritz and Speroff, 2011).