



PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BROKOLI (*Brassica oleracea*) TERHADAP KETEBALAN ENDOMETRIUM TIKUS

PUTIH WISTAR YANG DIPAPAR MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG)

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan



Oleh :

Annisa Istighfari Hernanda R

NIM 155070601111033

PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN

JURUSAN KEBIDANAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BROKOLI

(*Brassica oleracea*) TERHADAP KETEBALAN ENDOMETRIUM TIKUS

PUTIH WISTAR YANG DIPAPAR MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG)

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan



Oleh :

Annisa Istighfari Hernanda R

NIM 155070601111033

PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN

JURUSAN KEBIDANAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Report

2019



HALAMAN PERSETUJUAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BROKOLI (*Brassica oleracea*) TERHADAP KETEBALAN ENDOMETRIUM TIKUS PUTIH WISTAR YANG DIPAPAR MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG)

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan

Dleh:

Annisa Istighfari Hernanda R

NIM 155070601111033

Menyetujui untuk diuji:

Pembimbing-I

Pembimbing-II

Hans

Dr. dr. Nurdiana, M.Kes

NIP. 195510151986032001

Nur Aini Retno H, SST, M.Keb

NIK. 2018029003202001



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BROKOLI

(*Brassica oleracea*) TERHADAP KETEBALAN ENDOMETRIUM TIKUS

PUTIH WISTAR YANG DIPAPAR MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG)

Oleh:

Annisa Istighfari Hernanda R

NIM 155070601111033

Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 27 Mei 2019

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I
dr. Kenty Wantri Anita, M.Kes, Sp.PA
NIP. 197207151999032002

Pembimbing-II/Penguji-III

Dr. dr. Nurdiana, M.Kes
NIP. 195510151986032001
Mengetahui,
Ketua Program Studi S1 Kebidanan,

Linda Ratna Wati, SST.,M.Kes
NIP. 198409132014042001



Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Annisa Istighfari Hernanda R

NIM : 155070601111033

Program Studi : Program Studi S1 Kebidanan

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil-alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 27 Mei 2019

Yang membuat pernyataan,

Annisa Istighfari Hernanda R

NIM 155070601111033



KATA PENGANTAR

Puji syukur hanya kepada Allah SWT atas segala rahmat, petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*) Terhadap Ketebalan Endometrium Tikus Putih *Wistar* yang Dipapar Monosodium Glutamat (MSG)”. Tugas Akhir ini disusun sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan pendidikan dan memperoleh gelar Sarjana Kebidanan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Dengan terselesaiannya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. dr. Nurdiana, M.Kes sebagai dosen pembimbing pertama yang telah meluangkan waktunya selama proses bimbingan, memberikan bantuan dengan sabar, memberikan dukungan dan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
2. Ibu Nur Aini Retno H, S.ST., M.Keb sebagai dosen pembimbing kedua yang telah membimbing, memberikan saran, masukan dan semangat selama penulis menyelesaikan Tugas Akhir ini.
3. dr. Kenty Wantri Anita, M.Kes., Sp.PA sebagai penguji I pada ujian Tugas Akhir yang telah memberikan masukan dan perbaikan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini dengan lebih baik.
4. Ibu Linda Ratna Wati, S.ST., M.Kes sebagai Ketua Program Studi S1 Kebidanan yang telah membimbing penulis dalam menuntut ilmu di Program Studi Sarjana Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.



5. Dr. dr. Wisnu Barlanto, Msi.Med, Sp.A(K) sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
6. Seluruh Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB yang telah membantu memfasilitasi dalam urusan administrasi, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini dengan lancar.
7. Yang tersayang bapak Hery Widayanto, mamah Erna Winarni, adikku Salsabila A. Hernanda dan Arga I. Hernanda yang selalu mendukung, mendoakan, memberi semangat dan menyayangi sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
8. Yang terkasih teman-teman kelompok penelitian bersama Theresia Maria D.T, Onnitia Dwi P.C , Novi Dwi Palupi dan Flora Nunjil Naprilia yang selalu memberi dukungan, saran dan semangat.
9. Teman-teman Kebidanan angkatan 2015 FKUB atas dukungannya.
10. Semua pihak yang telah membantu menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mempersilahkan apabila terdapat kritik dan saran yang membangun. Demikian, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat.

Malang, 27 Mei 2019

Penulis



Hernanda R, Annisa Istighfari. 2019. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*) Terhadap Ketebalan Endometrium Tikus Putih Wistar yang Dipapar Monosodium Glutamat (MSG)**. Tugas Akhir, Program Studi S1 Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. dr. Nurdiana, M.Kes., (2) Nur Aini Retno H, SST, M.Keb

ABSTRAK

Monosodium Glutamat (MSG) merupakan salah satu penyedap makanan yang biasa digunakan oleh masyarakat. Konsumsi MSG secara berlebihan memiliki dampak merugikan terhadap organ reproduksi, salah satunya terhadap uterus yang mampu menyebabkan penurunan ketebalan endometrium sehingga bisa mengakibatkan kegagalan implantasi. Terjadinya peningkatan glutamat dan radikal bebas yang berlebihan, menyebabkan antioksidan dalam tubuh tidak mampu menangkal radikal bebas. Pemberian ekstrak etanol brokoli sebagai antioksidan melalui kandungan flavonoidnya akan menghambat reaksi berantai radikal bebas, sehingga dapat meningkatkan ketebalan endometrium pada tikus putih *wistar* yang dipapar MSG. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap peningkatan ketebalan endometrium tikus putih yang dipapar MSG. Studi eksperimental menggunakan desain penelitian *Randomized Post Test Only Control Group* dengan 30 sampel tikus putih *wistar* yang dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol negatif (KN) tidak dipapar MSG dan ekstrak etanol brokoli, kontrol positif (KP) hanya dipapar MSG 0,7 mg/gBB, perlakuan 1 (PI) dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak etanol brokoli 500 mg/kgBB, perlakuan 2 (PII) dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak etanol brokoli 1000 mg/kgBB, perlakuan 3 (PIII) dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak etanol brokoli 2000 mg/kgBB. Paparan MSG dan ekstrak etanol brokoli diberikan setiap hari selama 28 hari. Ketebalan endometrium diamati dengan mikroskop *Olympus BX51* dan diukur menggunakan *software OlyVIA*. Analisis data menggunakan uji *One Way Anova* dan LSD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata ketebalan endometrium antara KP dan KN dengan $p = 0,028$, serta terdapat perbedaan yang signifikan antara KP dan PII dengan $p = 0,008$ serta KP dan PIII dengan $p = 0,005$. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu ekstrak etanol brokoli dapat meningkatkan ketebalan endometrium pada tikus putih yang dipapar MSG.

Kata kunci: ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*), Monosodium Glutamat (MSG), ketebalan endometrium



Hernanda R, Annisa Istighfari. 2019. *The Effect of Ethanol Extract of Broccoli (*Brassica Oleracea*) on the Endometrium Thickness of White Rat Wistar Exposed by Monosodium Glutamate (MSG)*. Final Assignment, Bachelor of Midwifery Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. dr. Nurdiana, M.Kes., (2) Nur Aini Retno H, SST, M.Keb

ABSTRACT

Monosodium Glutamate (MSG) is one of food flavoring that commonly used by the people. Excessive consumption of MSG has an adverse effect on the reproduction organs, one of them to the uterus which can decrease the endometrium thickness so it can lead to implantation failure. The increase of glutamate and free radicals cause antioxidant in the body unable to ward off free radicals. Giving ethanol extract of broccoli as an antioxidant through its flavonoid can ward off chain reaction of free radicals, so it can increase the endometrium thickness of white rat *wistar* that exposed by MSG. This research is aimed to knowing the effect of ethanol extract of broccoli on increasing the endometrium thickness of white rat exposed by MSG. Experimental study using research design *Randomized Post Test Only Control Group* with 30 samples of white rat *wistar* that divided into 5 groups: control negative (KN) not exposed by MSG and ethanol extract of broccoli, control positive (KP) only exposed by MSG 0,7 mg/gBB, treatment 1 (PI) exposed by MSG 0,7 mg/gBB and ethanol extract of broccoli 500 mg/kgBB, treatment 2 (PII) exposed by MSG 0,7 mg/gBB and ethanol extract of broccoli 1000 mg/kgBB, treatment 3 (PIII) exposed by MSG 0,7 mg/gBB and ethanol extract of broccoli 2000 mg/kgBB. Exposure of MSG and ethanol extract of broccoli are given every day during 28 days. Endometrium thickness was observed use *Olympus BX51* microscope and measured use *OlyVIA* software. Data were analyzed using *One Way Anova* and LSD test. Result of this research show there was a significant difference on mean of endometrium thickness between KP and KN with $p = 0,028$, and there were significant difference between KP and PII with $p = 0,008$, also KP and PIII with $p = 0,005$. The conclusion is ethanol extract of broccoli can increase the endometrium thickness of white rat exposed by MSG.

Keywords: ethanol extract of broccoli (*Brassica oleracea*), *Monosodium Glutamate (MSG)*, endometrium thickness



DAFTAR ISI	
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademik	4
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Monosodium Glutamat (MSG).....	6
2.1.1 Definisi Monosodium Glutamat (MSG).....	6
2.1.2 Metabolisme Glutamat	7
2.1.3 Reseptor Glutamat.....	7
2.2 Radikal Bebas	9
2.3 Stres Oksidatif.....	10
2.4 Antioksidan	11
2.4.1 Definisi Antioksidan.....	11
2.4.2 Sumber Antioksidan.....	11
2.5 Brokoli.....	12



2.5.1 Definisi Brokoli	12
2.5.2 Klasifikasi Brokoli	13
2.5.3 Kandungan Brokoli	13
2.5.4 Flavonoid sebagai Antioksidan	13
2.6 Pengaruh Monosodium Glutamat (MSG) terhadap Endometrium	14
2.7 Endometrium	16
2.7.1 Histologi Endometrium	16
2.7.2 Siklus Endometrium	17
2.8 Siklus Reproduksi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	18
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	20
3.1 Kerangka Konsep	20
3.2 Hipotesis Penelitian	23
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	24
4.1 Rancangan Penelitian.....	24
4.2 Populasi dan Sampel.....	24
4.2.1 Populasi	24
4.2.2 Sampel	24
4.3 Variabel Penelitian	26
4.3.1 Variabel Bebas	26
4.3.2 Variabel Terikat	26
4.4 Tempat dan Waktu Penelitian	27
4.4.1 Tempat Penelitian.....	27
4.4.2 Waktu Penelitian.....	27
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	27
4.5.1 Pemeliharaan Hewan Coba	27
4.5.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	27
4.5.3 Pembuatan Dosis Monosodium Glutamat (MSG)	28
4.5.4 Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli dan Monosodium Glutamat	28
4.5.5 Pengambilan dan Pewarnaan Sampel Swab Vagina	29
4.5.6 Pengambilan Organ Endometrium.....	29
4.5.7 Pembuatan Slide Histopatologi Endometrium	30
4.5.8 Pengukuran Ketebalan Endometrium	30
4.6 Definisi Operasional	31
4.7 Prosedur Penelitian	32
4.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	32
4.7.2 Pembuatan Dosis Monosodium Glutamat (MSG)	34



4.7.3 Aklimatisasi Hewan Coba	35
4.7.4 Pembagian Kelompok.....	35
4.7.5 Pemberian Monosodium Glutamat dan Ekstrak Etanol Brokoli	36
4.7.6 Pengambilan dan Pewarnaan Sampel Swab Vagina	36
4.7.7 Pengambilan Organ Uterus	37
4.7.8 Pembuatan Histopatologi.....	38
4.7.9 Pengukuran Ketebalan Endometrium dengan Mikroskop Olympus BX51 dan Software OlyVIA	40
4.8 Analisi Data	40
4.9 Alur Penelitian.....	43
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	44
5.1 Hasil Penelitian	44
5.1.1 Ketebalan Endometrium Tikus Putih <i>Wistar</i> yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG) dan diberi Ekstrak Etanol Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	45
5.2 Hasil Analisis Data.....	47
5.2.1 Uji Normalitas Ketebalan Endometrium Tikus Putih <i>Wistar</i> yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG) dan diberi Ekstrak Etanol Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	47
5.2.2 Uji Homogenitas Ketebalan Endometrium Tikus Putih <i>Wistar</i> yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG) dan diberi Ekstrak Etanol Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	48
5.2.3 Uji Hipotesa Ketebalan Endometrium Tikus Putih <i>Wistar</i> yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG) dan diberi Ekstrak Etanol Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	48
BAB 6 PEMBAHASAN	53
6.1 Pembahasan Hasil Penelitian.....	53
6.1.1 Pengaruh Monosodium Glutamat (MSG) terhadap Ketebalan Endometrium	53
6.1.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>) terhadap Ketebalan Endometrium pada Tikus Putih yang Dipapar Monosodium Glutamat (MSG).	54
6.2 Implikasi Terhadap Bidang Kebidanan	56
BAB 7 PENUTUP	57
7.1 Kesimpulan	57
7.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN.....	62



DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil Uji Normalitas.....	47
Tabel 5.2 Hasil Uji Homogenitas.....	48
Tabel 5.3 Hasil Uji Anova.....	49
Tabel 5.4 Hasil Uji LSD.....	50



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pembentukan Radikal Bebas.....	10
Gambar 2.2 Brokoli.....	12
Gambar 2.3 Siklus estrus tikus putih dilihat dari hasil swab vagina.....	19
Gambar 3.1 Kerangka konsep.....	20
Gambar 4.1 Alur Penelitian.....	43
Gambar 5.1 Hasil Pengamatan Mikroskopis Ketebalan Endometrium.....	45
Gambar 5.2 Grafik Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>) Terhadap Ketebalan Endometrium Tikus Putih <i>Wistar</i> yang Dipapar Monosodium Glutamat (MSG).....	46



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Surat Keterangan Kelaikan Etik.....	62
Lampiran 2	Data Ketebalan Endometrium Hasil Penelitian.....	63
Lampiran 3	Analisis Data Hasil Penelitian.....	64
Lampiran 4	Surat Keterangan Konsultasi kepada ahli Patologi Anatomi.....	66
Lampiran 5	Dokumentasi Penelitian.....	67



DAFTAR SINGKATAN

ADI	: <i>Acceptable Daily Intake</i>
AMPA	: <i>A-amino-3-hidroksi-5-metil-4 isoxazole propionic acid</i>
BTP	: Bahan Tambahan Pangan
BHA	: <i>Butylated Hydroxyl Anilin</i>
CAT	: <i>Catalase</i>
GPx	: <i>Glutathione peroxidase</i>
DMBA	: <i>Dimethylbenz(a)antracene</i>
FASEB	: <i>Federation of American Societies for Experimental Biology</i>
FDA	: <i>Food and Drug Administration</i>
FSH	: <i>Follikel Stimulating Hormone</i>
GnRH	: <i>Gonadotropin Releasing Hormone</i>
GRAS	: <i>Generally Recognized As Safe</i>
H_2O_2	: <i>Hidrogen peroksida</i>
LH	: <i>Luteinizing Hormone</i>
MDA	: <i>Malondialdehid</i>
MSG	: <i>Monosodium Glutamat</i>
NMDA	: <i>N-methyl-D-aspartate</i>
NO_2^-	: <i>Nitrogen dioksida</i>
OH^-	: <i>Hidrosil</i>
O_2^-	: <i>radikal superoksil</i>
O_3	: <i>Ozon</i>
ONOO ⁻	: <i>Peroksinitrit</i>
RNS	: <i>Reactive Nitrogen Spesies</i>



ROS

: *Reactive Oxygen Species*

RO⁻

: *Radikal alkoksil*

RO₂

: *Radikal peroksil*

SOD

: *Superoxide dismutase*



1.1 Latar Belakang

Sebagian besar masyarakat sudah biasa menggunakan penyedap makanan tanpa mengetahui batasan konsumsi dan dampak merugikan apabila mengkonsumsi secara berlebihan. Mereka merasa bila menggunakan bumbu rempah saja kurang memberikan rasa lezat dan gurih. Salah satu zat penyedap makanan tersebut adalah Monosodium Glutamat (MSG) yang dijual secara bebas dengan berbagai merek dagang, sehingga masyarakat bisa mendapatkannya dengan mudah. Penggunaan MSG tersebut tidak hanya dikalangan ibu rumah tangga untuk memasak tetapi juga pada industri pengolahan makanan seperti makanan ringan, mi instan dan bumbu campuran (CEH, 2015).

Food and Drug Administration (FDA) memaparkan bahwa Monosodium Glutamat (MSG) ialah garam natrium dari asam amino glutamat dan menyatakan MSG termasuk “*Generally Recognized As Safe*” (GRAS) yang berarti aman dikonsumsi (FDA, 2010). Peraturan Kepala BPOM RI nomor 23 tahun 2013 tentang batas maksimum penggunaan Bahan Tambahan Pangan (BTP) penguat rasa menyatakan bahwa ADI (*Acceptable Daily Intake*) *not specified* pada penggunaan MSG yang berarti dengan konsumsi secukupnya dan sesuai selera, MSG tidak akan menimbulkan bahaya bagi kesehatan. MSG dinyatakan aman untuk dikonsumsi, namun WHO menetapkan 0-120 mg/kg BB perhari sebagai batasan aman untuk dikonsumsi. *Federation of American Societies for Experimental Biology* (FASEB) melaporkan adanya keluhan akibat konsumsi MSG seperti rasa panas di leher, lengan dan dada, diikuti kaku otot pada daerah

PENDAHULUAN

tersebut yang menyebar ke punggung serta panas dan kaku di wajah diikuti nyeri dada, sakit kepala, mual, dan palpitas (Walker, 2000).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui dampak merugikan akibat konsumsi MSG terhadap organ tubuh termasuk organ reproduksi. Pada uterus, MSG dapat menyebabkan penipisan ketebalan epitel endometrium, berkurangnya diameter pembuluh darah, perubahan kepadatan stroma dan konfigurasi kelenjar (Muchsin, 2009). Wahyuni (2014) mendapatkan hasil penelitian berupa adanya penurunan pada ketebalan endometrium tikus yang dipapar MSG dengan dosis 140 mg/200grBB yang diberikan secara peroral selama 42 hari, hal tersebut berkaitan dengan terganggunya proses proliferasi dinding endometrium. Studi yang dilakukan oleh Yu Wu *et al.* (2014) menunjukkan korelasi antara tingkat implantasi dan ketebalan endometrium. Pada endometrium yang tipis didapatkan angka keguguran yang lebih tinggi. Tingkat implantasi secara signifikan lebih rendah (10,17%) dengan ketebalan endometrium yang tipis.

Peningkatan glutamat dalam plasma darah yang dihasilkan dari konsumsi MSG berlebihan menyebabkan reseptor glutamat bekerja secara berlebihan yang dapat mengakibatkan kerusakan pada sel-sel yang memiliki reseptor glutamat tersebut. Stimulasi dari reseptor glutamat menyebabkan pengeluaran Ca^{2+} berlebihan yang mengakibatkan kerusakan di neuron dan meningkatkan konsentrasi Ca^{2+} intraseluler. Konsentrasi tinggi Ca^{2+} mengaktifkan beberapa jalur enzim dan sinyal kaskade seperti *phospholipase*, protein *kinase C*, dan radikal bebas (Gill and Pulido, 2001). Peningkatan radikal bebas akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif sehingga merusak jalur glutamat yang penting sebagai asam amino dan neurotransmitter dalam tubuh,

menyebabkan lesi pada nukleus arkuata hipotalamus, dan menurunkan respon rangsangan terhadap *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) sehingga kadar *Follikel Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) dalam darah menurun yang akan berpengaruh terhadap sistem reproduksi wanita (Septadina, 2014).

Tubuh memiliki antioksidan endogen yang berfungsi sebagai pertahanan tubuh terhadap radikal bebas. Peningkatan radikal bebas yang berlebihan menyebabkan antioksidan dalam tubuh tidak mampu menghentikan reaksi oksidasi yang terjadi, sehingga dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar.

Sumber antioksidan yang berlimpah bisa didapatkan dari sayuran jenis *family Brassicaceae* yang salah satunya adalah brokoli (*Brassica oleracea*). Brokoli memiliki kandungan *karotenoid*, *flavonoid*, vitamin A, C, E, *tiamin*, *riboflavin*, *betakaroten*, *lutein* dan *glutation* yang bersifat sebagai antioksidan (Sami dan Rahimah, 2016).

Adanya kebiasaan masyarakat menggunakan MSG untuk meningkatkan cita rasa makanan, kurangnya pengetahuan terkait batas asupan MSG perhari serta berdasarkan hasil penelitian terdahulu yang menunjukkan MSG menyebabkan gangguan reproduksi wanita salah satunya berupa penipisan ketebalan endometrium, maka perlu diteliti bagaimana pengaruh ekstrak etanol brokoli sebagai antioksidan terhadap ketebalan endometrium pada tikus yang dipapar MSG.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dapat meningkatkan ketebalan endometrium pada tikus putih *wistar* yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap peningkatan ketebalan endometrium pada tikus putih yang dipapar MSG.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan MSG dapat menurunkan ketebalan endometrium pada tikus putih.
 2. Membuktikan ekstrak etanol brokoli dapat meningkatkan ketebalan endometrium pada tikus putih yang dipapar MSG.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Menambah referensi tentang manfaat ekstrak etanol brokoli sebagai antioksidan dapat meningkatkan ketebalan endometrium akibat konsumsi MSG yang berlebihan.



1.4.2 Manfaat Praktis

Menambah informasi bahwa mengkonsumsi brokoli sebagai antioksidan dapat mencegah terjadinya penipisan endometrium yang bisa mengakibatkan keguguran akibat konsumsi MSG berlebihan.



2.1 Monosodium Glutamat (MSG)

2.1.1 Definisi Monosodium Glutamat (MSG)

Monosodium glutamat (MSG) merupakan garam natrium dari asam amino asam glutamat. Secara alami, asam glutamat ada dalam tubuh kita, dalam bahan makanan dan bahan tambahan makanan (FDA, 2010). MSG tidak memiliki rasa, namun berfungsi sebagai penegas cita rasa (flavor enhancer) pada makanan. Rumus kimia dari

MSG ialah $C_5H_8NNaO_4H_2O$ yang memiliki kandungan unsur berupa Natrium (12%), glutamat (78%) dan air (10%), serta memiliki sifat larut dalam air (Geha, et al. 2000).

MSG ditemukan pertama kali pada tahun 1908 oleh seorang ahli kimia Jepang dari Universitas Tokyo yang bernama Ikeda Kikunae. Rasa lezat yang ditemukan dalam MSG tersebut dikenal dengan sebutan “*umami*” (dalam bahasa Jepang) yang memiliki arti enak, gurih dan lezat. MSG sangat cepat terkenal di Jepang, Asia, Eropa bahkan Amerika karena rasa lezat yang ditimbulkannya pada makanan tidak dapat diciptakan oleh makanan lain (Sand, 2005). MSG dikenal dengan berbagai macam sebutan seperti ajinomoto atau vetsin, sasa, masako, rovco dan sebagainya (Maidawilis, 2010).

MSG dapat dibuat melalui fermentasi tetes gula dengan bakteri *Brevibacterium lactofermentum*. Asam glutamat yang ditambah soda (Natrium karbonat) akan membentuk monosodium glutamat (MSG).

BAB 2

JAN PUSTAKA

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

-6-



selanjutnya dimurnikan dan dikristalisasi sehingga didapatkan serbuk kristal murni yang siap dijual secara umum (Prawirohardjono, 2000).

2.1.2 Metabolisme Glutamat

Glutamat dalam MSG secara kimia tidak dapat dibedakan dengan glutamat yang berasal dari tubuh maupun dari protein makanan, sehingga tubuh memetabolisme semua glutamat dengan cara yang sama tanpa membedakan sumber glutamat tersebut (FDA, 2010).

Proses metabolisme MSG di dalam tubuh akan berbeda berdasarkan cara pemberiannya. MSG yang diberikan secara parenteral tidak diabsorbsi melewati usus dan sirkulasi vena portal, sedangkan MSG yang diberikan secara per oral akan diabsorbsi melalui usus kemudian sirkulasi portal dan hati. Glutamat diabsorbsi dan ditransmisikan dengan piruvat menjadi bentuk alanin. Sebagian glutamat akan dikonversikan oleh usus dan hati kedalam bentuk mukosa dan laktat, selanjutnya akan dialirkan melalui sirkulasi darah perifer. Asam glutamat akan dimetabolisme di hati namun ketika jumlahnya melebihi kapasitas hati dalam memetabolismenya, maka akan terjadi peningkatan glutamat dalam plasma darah (Sukawan, 2008).

2.1.3 Reseptor Glutamat

Reseptor glutamat merupakan reseptor sinaptik utama yang berada di membran sel saraf dan memiliki tanggung jawab atas eksitasi glutamat yang dimediasi post synaptic sel saraf, penting untuk komunikasi saraf, pembentukan memori, belajar dan regulasi (Foran and Trotty, 2009).

Menurut Foran and Trotty (2009), sinyal glutamat melalui dua jenis reseptor yaitu :

1. Reseptor Ionotropik (Iglu)

Reseptor ionotropik (Iglu) merupakan saluran ion glutamat yang mengatur respon cepat ketika aktivasi atau suatu aktivasi reseptor secara langsung yang digabungkan ke saluran ion membran

Reseptor ini dibagi dalam 3 sub tipe yaitu *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) merupakan saluran kation dengan jumlah Ca^{2+} terbanyak, *α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-iosoxazole propionic acid* (AMPA) sebagai saluran Na^+ dan pengeluaran Ca^{2+} , dan *Kainate* (Ka) reseptor merupakan saluran ion sederhana yang akan mengizinkan masuknya Na^+ dan pengahabisan K^+ (Ganong, 2010).

2. Reseptor Metabotropik

Reseptor metabotropik merupakan reseptor *G-protein-coupled* yang modulasi transduksi sinyal kaskade atau aktivasi reseptor digabungkan ke kaskade biokimia intraseluler yang diduga menyebabkan membuka atau menutupnya saluran ion membran.

Reseptor ini dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok I ($mGlu1$ dan $mGlu5$), kelompok II ($mGlu2$ dan $mGlu3$), dan kelompok III ($mGlu4$, $mGlu6$, $mGlu7$ dan $mGlu8$) (Niswender and Corn, 2010).



2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu atom, gugus, molekul yang minimal memiliki satu elektron yang tidak berpasangan pada orbit yang paling luar sehingga menyebabkan radikal bebas bersifat sangat aktif dan tidak stabil. Radikal bebas memiliki simbol berupa sebuah titik didekat simbol atom ($R\cdot$). Radikal bebas secara alami ada yang dihasilkan dari dalam tubuh (endogen) seperti radikal dari mitokondria, xantin oksidase, NADPH oksidase, membran inti sel dan peroksisom. Selain itu, radikal bebas juga dapat diperoleh dari luar tubuh (eksogen) yang dihasilkan dari lingkungan luar seperti asap rokok, radiasi UV, polusi, dan bahan kimia toksik. Radikal bebas ini dapat memiliki muatan positif (cation), negatif (anion), atau tidak bermuatan (Halliwell and Gutteridge, 2007). Terdapat jenis radikal bebas yang merusak sel (Setiati, 2003):

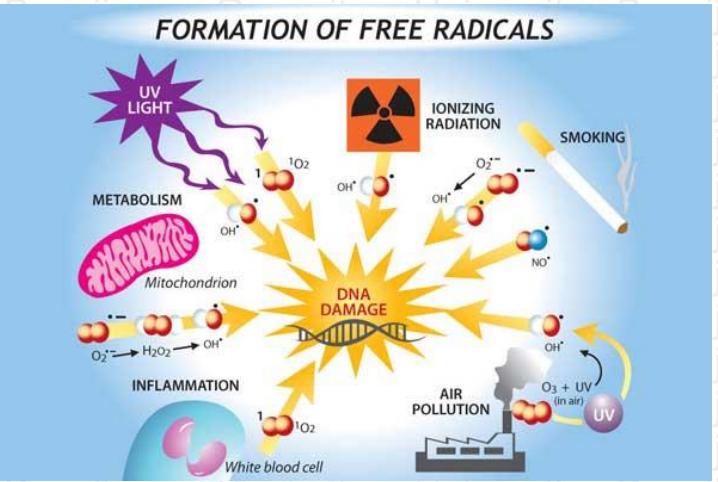
1. Reactive Oxygen Species (ROS)

Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan senyawa reaktif turunan oksigen yang memiliki sifat sebagai radikal dan non radikal. ROS yang bersifat radikal antara lain *radikal hidroksil* ($\text{OH}\cdot$), *radikal superoksil* ($\text{O}_2\cdot$), *radikal peroksil* ($\text{RO}_2\cdot$), dan *radikal alkoksil* ($\text{RO}\cdot$). Sedangkan ROS yang bersifat non radikal antara lain *Ozon* (O_3), *Hydrogen Peroksida* (H_2O_2) dan *HOCl*.

2. Reactive Nitrogen Species (RNS)

Senyawa yang termasuk Reactive Nitrogen Species (RNS) memiliki sifat sebagai radikal dan non radikal. RNS yang bersifat

radikal antara lain Nitrogen dioksida (NO_2) dan Peroksinitrit (ONOO^-). Sedangkan RNS yang bersifat non radikal antara lain HNO_2 dan NP_4^+ .



Gambar 2.1 Pembentukan Radikal Bebas (Shinde et al., 2012).

2.3 Stres Oksidatif

Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara antioksidan endogen dan radikal bebas dalam tubuh. Stres oksidatif bisa diakibatkan dari proses mutasi pada enzim yang berperan sebagai antioksidan sehingga antioksidan endogen mengalami penurunan. Selain itu, diakibatkan oleh peningkatan radikal bebas yang melebihi kapasitas antioksidan dalam tubuh sehingga menyebabkan kerusakan pada komponen seluler secara irreversibel serta memicu kerusakan pada DNA mitokondria, peningkatan apoptosis sel (Halliwell & Gutteridge, 2007).

2.4 Antioksidan

2.4.1 Definisi Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat mencegah proses reaksi oksidasi radikal bebas sehingga menghambat reaksi berantai dari radikal bebas. Molekul pada antioksidan dapat memberikan elektronnya ke elektron dari radikal bebas yang tidak berpasangan tanpa merusak fungsi dari molekul antioksidan tersebut (Halliwell and Gutteridge, 2007).

2.4.2 Sumber Antioksidan

Sumber antioksidan dapat dikelompokkan sebagai berikut :

a. Antioksidan endogen

Antioksidan endogen merupakan antioksidan enzimatis yang sudah ada dalam tubuh manusia, seperti *Superoxide dismutase* (SOD), *Glutathione peroxidase* (GPx), dan *Catalase* (CAT).

b. Antioksidan sintesis

Antioksidan sintesis banyak digunakan pada produk pangan seperti *Butylated Hidroxil Anilin* (BHA), *Butylated Hidroksil Toluena* (BHT), *Propil Galat* (PG) dan *Tersier Butil Hidroksi Quinon* (TBHQ).

c. Antioksidan eksogen

Antioksidan eksogen dapat diperoleh secara alami dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, buah, bunga, akar, daun, biji, serbuk sari, serta dapat diperoleh dari hewan



ataupun mikroba. Senyawa antioksidan yang didapatkan dari bahan alami yaitu klorofil, vitamin C, vitamin E, beta karoten, antosianin, klorofil, flavonid dan polifenol. Antioksidan alami ini dapat dijadikan sebagai pengganti dari antioksidan sintetis (Gill et al., 2002).

12

2.5 Brokoli

2.5.1 Definisi Brokoli

Brokoli (*Brassica oleracea*) adalah salah satu tanaman yang tergolong dalam keluarga kubis-kubisan atau *Brassicaceae*. Brokoli sudah tidak asing dan banyak dikonsumsi sebagai sayuran oleh masyarakat. Bagian tanaman brokoli yang biasa dimakan adalah kepala bunga yang berwarna hijau menyerupai cabang pohon yang tersusun rapat (Dalimartha, 2000).



Gambar 2.2 Brokoli (Dalimartha, 2000)



2.5.2 Klasifikasi Brokoli

Brokoli diklasifikasikan sebagai berikut (Dalmartha, 2000) :

Divisi : *Spermatophyta*

Subdivisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Ordo : *Capparales*

Family : *Brassicaceae*

Genus : *Brassica*

Spesies : *Brassica oleracea var. italica*

2.5.3 Kandungan Brokoli

Brokoli memiliki kandungan zat gizi berupa karbohidrat, serat, protein, lemak, air, vitamin A, C, E, zat besi, kalsium, fosfor, riboflavin, nikotinamide (Azeliya, 2013). Komponen antioksidan pada brokoli antara lain terdiri dari beta-karoten, lutein, klorofil, sulforaphan, glucorapharin, quercetin, kaempferol dan lignin. Kandungan quercetin dan kaemperol merupakan zat aktif flavonoid sebesar 0,03-10,85mg/100g dan 0,24-13,20 mg/100g (Lingga, 2010). Mekanisme antioksidan dari flavonoid ialah sebagai *scavenger* yang akan menangkap radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen dari gugus hidroksil flavonoid dan menangkap oksigen dari radikal (Sielma, 2015).

2.5.4 Flavonoid sebagai Antioksidan

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolik sekunder yang paling banyak ditemukan pada sayuran dan buah-



buah. Sebagai antioksidan, flavonoid berpotensi lebih kuat dibandingkan dengan vitamin C dan E. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6 (Wardani, 2016). Berdasarkan struktur kimianya, flavonoid diklasifikasikan menjadi flavanol, flavanon, falvon, isoflavan, katekin, anthocyanin, proanthocyanidins. Flavonoid merupakan antioksidan yang kuat, yang dapat bersumber dari teh hijau, anggur merah, apel, coklat, kedelai, temulawak, beras, bawang dan brokoli (Pham-Huy et al, 2008). Flavonoid akan menstabilkan radikal bebas dengan menyumbangkan atom hidrogennya, sehingga radikal bebas akan menjadi radikal stabil (Prochazkuva et al, 2011).

2.6 Pengaruh Monosodium Glutamat (MSG) terhadap Endometrium

Sistem saraf pusat sangat rentan terkena kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas akibat tingginya konsumsi oksigen pada otak, banyaknya kandungan lipid dan rendahnya antioksidan dibandingkan organ lain (Shivasharan et al., 2013). Peningkatan jumlah glutamat yang berlebihan mengakibatkan glutamat tersebut akan dipompa kembali kedalam sel glia di neuron. Konsumsi MSG secara berlebihan mengakibatkan terjadinya peningkatan glutamat dalam plasma darah (Sukawan, 2008). Peningkatan glutamat dalam plasma darah tersebut menyebabkan reseptor glutamat bekerja secara berlebihan yang disebut excitotoxin. Stimulasi yang berlebihan dari reseptor glutamat tersebut menyebabkan peningkatan pengeluaran Ca^{2+} ke dalam neuron melewati saluran ion sehingga mengakibatkan kerusakan di neuron, selain itu juga menyebabkan peningkatan



konsentrasi Ca^{2+} intraseluler. Konsentrasi Ca^{2+} yang tinggi akan mengaktifkan beberapa jalur enzim dan sinyal kaskade termasuk *phospholipase*, *protein kinase C*, *fosfatase protein*, *protease*, *nitric oxide synthase* dan radikal bebas. Peningkatan konsentrasi Ca^{2+} juga mengaktifkan endonuklease yang menyebabkan kondensasi kromatin nuklir dan fragmentasi DNA serta terjadinya apoptosis (Gill and Pulido, 2001). Penurunan aktivitas antioksidan seperti *superoksida dismutase* dan *katalase* menjadi suatu indikasi adanya stres oksidatif di otak. *Superoksida dismutase* mengkatalisis pemecahan anion superoksida menjadi oksigen dan *hidrogen peroksida* (H_2O_2). *Katalase* mengkatalisis perubahan *hidrogen peroksida* (H_2O_2) menjadi air dan oksigen menggunakan besi atau mangan sebagai kofaktor (Onaolapo et al., 2016).

Peningkatan glutamat yang berlebihan dapat mempengaruhi struktur dan fungsi bagian otak yang tidak dilindungi oleh sawar darah otak seperti hipotalamus sehingga menyebabkan kerusakan nukleus arkuata di hipotalamus, sel-sel saraf akan rusak dan mati serta mengganggu regulasi dari reseptor glutamat (Gill and Pullido, 2001). MSG yang diberikan pada tikus betina menyebabkan gangguan pada hipofisis di hipotalamus sehingga menyebabkan adanya penurunan pada kadar estradiol dan jumlah folikel de graaf (Dash and Ghosh, 2011). Adanya kerusakan tersebut mengganggu sekresi *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) kemudian menyebabkan sekresi *Follikel Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) berkurang sehingga menyebabkan gangguan pada proses pematangan folikel



yang berakibat sekresi hormon estrogen menjadi menurun. Penurunan kadar estrogen akan berpengaruh terhadap penurunan proliferasi pada endometrium kemudian terjadi penipisan endometrium yang bisa menyebabkan ketidaksiapaan uterus sebagai tempat implantasi dalam menerima hasil konsepsi sehingga bisa mengakibatkan kegagalan implantasi (Sheerwood, 2004).

2.7 Endometrium

Endometrium merupakan lapisan mukosa pada lapisan bagian dalam uterus yang tersusun atas pembuluh darah, kelenjar dan stroma (Cunningham *et al*, 2005). Endometrium terdiri dari berkas padat otot polos yang dipisahkan oleh untai tipis jaringan ikat interstisial dan memiliki banyak pembuluh darah. Permukaan endometrium dilapisi oleh epitel selapis silindris yang meluas kedalam jaringan ikat lamina propria dan membentuk kelenjar uterus tubular yang panjang (Eroschenko, 2012).

2.7.1 Histologi Endometrium

Endometrium dibagi menjadi lapisan basalis dan lapisan fungsional. Lapisan basalis terletak pada sepertiga bagian bawah dan berfungsi dalam regeneratif endometrium setelah hilangnya lapisan fungsional saat menstruasi. Sedangkan lapisan fungsional terletak pada dua pertiga bagian atas yang merupakan tempat proliferasi, sekresi maupun degenerasi dan berfungsi mempersiapkan endometrium dalam implantasi (Fritz & Speroff, 2011). Pada keadaan yang normal, endometrium menebal dengan kecepatan 0,5 mm/hari pada hari -3 s/d +2 ovulasi kemudian



kecepatannya melambat menjadi 0,1 mm/hari ketika berada di fase luteal (Erwinanto, 2004).

2.7.2 Siklus Endometrium

Selama menstruasi terjadi beberapa perubahan pada endometrium yang berkaitan dengan fungsi ovarium. Perubahan tersebut dibagi menjadi 3 fase yaitu:

a. Fase Proliferasi

Pada fase proliferasi, endometrium dipengaruhi oleh estrogen ovarium. Sel kelenjar dan stroma endometrium mengalami mitosis, mukosa menebal hingga 2 mm atau lebih. Penebalan yang terjadi disertai perkembangan folikel ovarium dan sekresi estrogen (Eroschenko, 2012).

b. Fase Sekretori (Luteal)

Pada fase sekresi, endometrium menebal mencapai 4 mm. Penebalan ini disebabkan oleh hipertrofi kelenjar dan peningkatan jumlah cairan. Perubahan endometrium dipengaruhi hormon estrogen dan progesteron yang disekresi oleh korpus luteum fungsional (Erochenko, 2012).

c. Fase Menstruasi

Fase menstruasi terjadi ketika tidak ada fertilisasi dan implantasi di uterus. Korpus luteum mengalami regresi sehingga kadar estrogen dan progesteron menurun yang menyebabkan konstriksi intermiten arteri spiralis. Hal tersebut menyebabkan aliran darah ke lapisan fungsional



terganggu, sehingga terjadi iskemi dan nekrosis dinding arteri serta lapisan fungsional yang mengakibatkan perdarahan disertai terlepasnya sebagian lapisan fungsional endometrium dan sisa endometrium akan mengkerut karena hilangnya cairan interstital (Junqueira and Carneiro, 2007).

2.8 Siklus Reproduksi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Siklus reproduksi tikus putih terdiri dari empat fase yaitu proestrus, estrus, metestrus dan diestrus. Masing-masing dari siklus tersebut berlangsung selama 4-5 hari (Marchondes, 2002).

1. Fase Proestrus

Fase proestrus terjadi selama 2-3 hari yang ditandai dengan pertumbuhan folikel dan produksi estrogen (Marchondes, 2002).

Hasil pemeriksaan swab vagina menunjukkan berkurangnya jumlah sel epitel berinti yang digantikan oleh sel epitel bertanduk, leukosit berkurang dan terdapat banyak mucus (Akbar, 2010).

2. Fase Estrus

Pada fase estrus terjadi ovulasi dan peningkatan produksi estrogen. Hasil pemeriksaan swab vagina menunjukkan hilangnya sel epitel berinti dan sel darah putih serta terdapat epitel bertanduk yang berukuran besar tetapi dan bentuk yang tidak beraturan (Akbar, 2010).

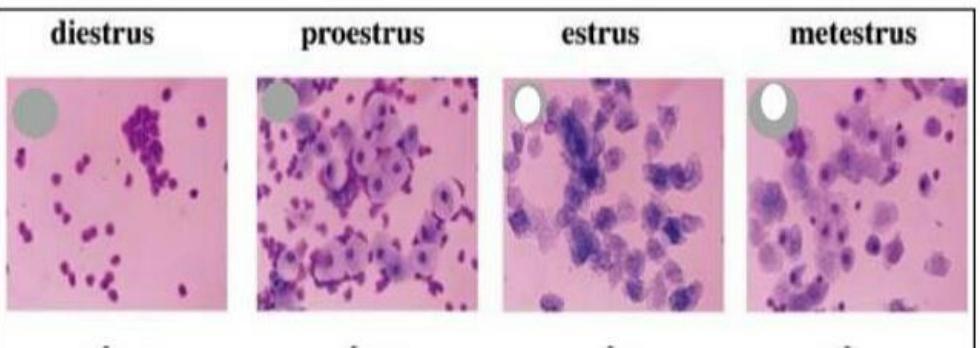
3. Fase Metestrus

Fase metestrus terjadi setelah fase estrus. Pada fase ini akan terbentuk korpus luteum dan terjadi ovulasi (Marchondes, 2002).

Hasil pemeriksaan swab vagina menunjukkan adanya epitel berinti dan sel darah putih serta jumlah sel epitel bertanduk yang semakin berkurang (Akbar, 2010).

4. Fase Diestrus

Pada fase diestrus, korpus luteum akan bekerja secara optimal dan pada fase ini uterus akan dipersiapkan untuk kehamilan (Marchondes, 2002). Hasil pemeriksaan swab vagina menunjukkan adanya jumlah leukosit dan sel epitel yang banyak dan letak tersebar, homogen (Akbar, 2010).

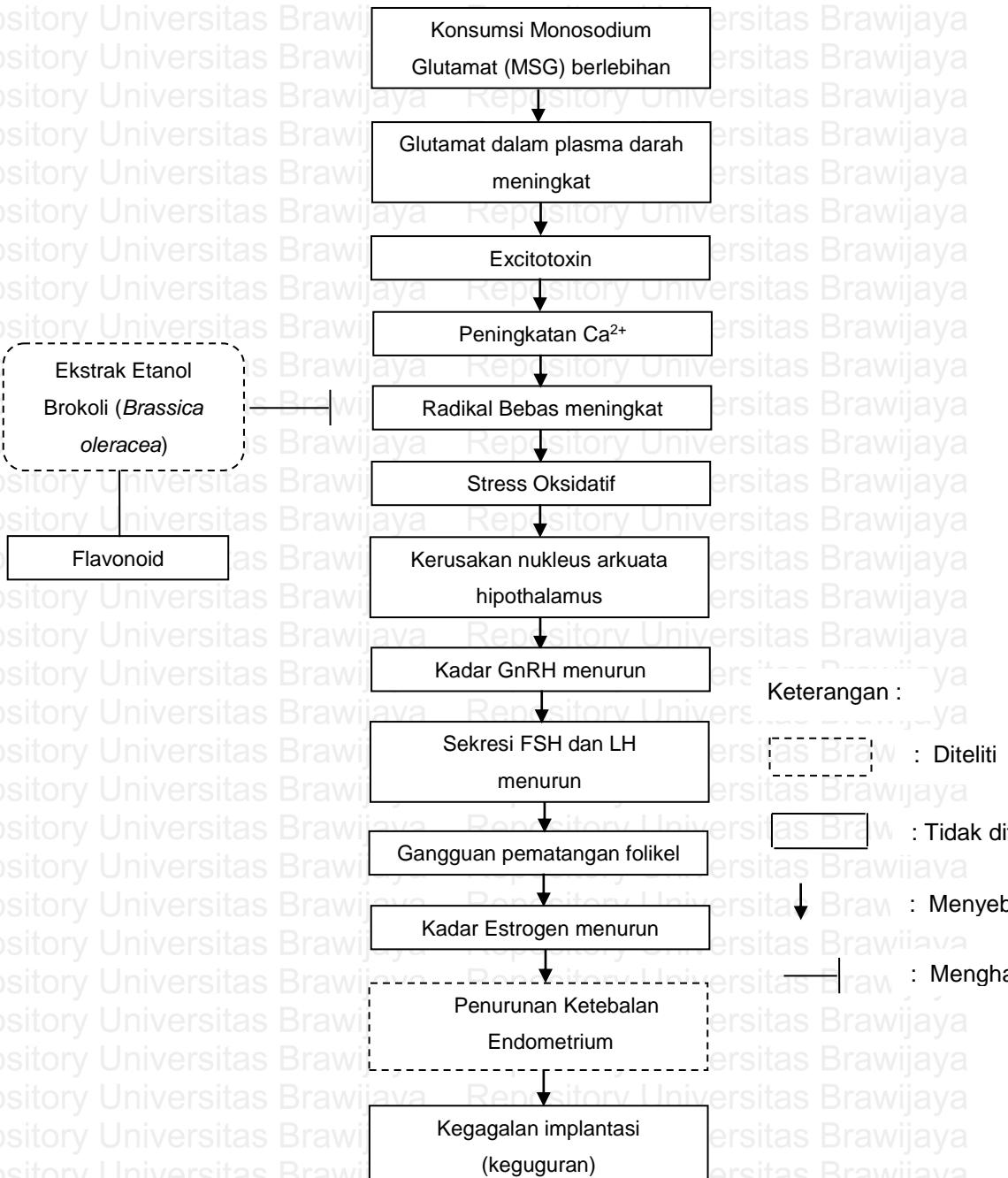


Gambar 2.3 Siklus estrus tikus putih dilihat dari hasil swab vagina (Eroschenko, 2008)



KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka konsep



Pada konsumsi secara per oral, Monosodium Glutamat (MSG) akan melewati usus ke sirkulasi vena portal menuju hati. Asam glutamat akan dimetabolisme di hati dan apabila jumlahnya berlebihan maka akan menyebabkan peningkatan glutamat dalam plasma darah (Sukawan, 2008). Peningkatan glutamat dalam plasma darah menyebabkan reseptor glutamat bekerja secara berlebihan (overaktivasi) yang disebut dengan excitotoxin. Stimulasi yang berlebihan dari reseptor glutamat tersebut akan menyebabkan pengeluaran Ca^{2+} berlebihan ke dalam neuron melalui saluran ion yang mengakibatkan kerusakan di neuron dan akan meningkatkan konsentrasi Ca^{2+} intraseluler. Konsentrasi tinggi Ca^{2+} mengaktifkan beberapa jalur enzim dan sinyal kaskade termasuk *phospholipase*, protein *kinase C*, *protease*, *fosfatase protein*, *nitric oxide synthase* dan radikal bebas (Gill and Pulido, 2001). Overaktivasi dari reseptor glutamat menyebabkan peningkatan respirasi mitokondria, persediaan ATP akan dihabiskan secara cepat sehingga terjadi depresi akut ATP yang berakibat meningkatnya akumulasi Ca^{2+} di mitokondria. Hal ini menyebabkan terganggunya rantai respirasi dan produksi ATP sehingga memacu pembentukan radikal bebas. Peningkatan radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan jalur glutamat yang penting sebagai asam amino dan neurotransmitter dalam tubuh dan kerusakan pada organ yang mempunyai reseptor glutamat seperti hipotalamus dan organ reproduksi wanita. Peningkatan radikal bebas yang tidak seimbang dengan kapasitas antioksidan untuk menangkal radikal bebas mengakibatkan terjadinya stress oksidatif yang selanjutnya akan menginduksi kerusakan komponen seluler secara *irreversibel* dan berakibat pada kerusakan sel. Tidak semua bagian di otak dilindungi oleh sawar darah otak seperti hipotalamus sehingga peningkatan glutamat mampu

menyebabkan kerusakan nukleus arkuata di hipotalamus yang mengatur sekresi hormon reproduksi. Kerusakan tersebut menyebabkan penurunan kadar *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) yang mengakibatkan menurunnya sekresi *Follikel Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) oleh hipofisis anterior sehingga menyebabkan gangguan pematangan folikel yang berakibat turunnya sekresi hormon estrogen. Hormon estrogen berperan dalam proliferasi endometrium, meningkatkan ketebalan epitel endometrium, menambah lebar dan panjang diameter pembuluh darah, menyebabkan konfigurasi kelenjar semakin berkelok-kelok, dan stroma semakin longgar (Muchsin, 2009). Penurunan kadar estrogen yang dihasilkan akan berpengaruh terhadap penurunan proliferasi pada endometrium kemudian terjadi penipisan endometrium yang bisa menyebabkan ketidaksiapaan uterus sebagai tempat implantasi dalam menerima hasil konsepsi sehingga bisa mengakibatkan kegagalan implantasi (Sheerwood, 2004).

Tubuh memiliki antioksidan endogen yang bekerja secara sistematis dan bersinergi dalam menangkal radikal bebas. Terjadinya peningkatan glutamat dan radikal bebas yang berlebihan, menyebabkan antioksidan dalam tubuh tidak mampu menangkal radikal bebas. Pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) sebagai antioksidan melalui kandungan *flavonoidnya* akan menghambat reaksi berantai radikal bebas, sehingga dapat meningkatkan ketebalan endometrium pada tikus putih *wistar* yang dipapar MSG.



3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dapat meningkatkan ketebalan endometrium pada tikus putih *wistar* yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG)



4.1 Rancangan Penelitian

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian ini merupakan penelitian *True Eksperimental Laboratorium* dengan menggunakan desain penelitian *Randomized Post Test Only Control Group*.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini menggunakan tikus putih *wistar* dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang diambil secara acak (*random*), sehingga setiap tikus memiliki kesempatan yang sama untuk menjadi sampel.

4.2.2 Sampel

Kriteria inklusi dan eksklusi yang digunakan dalam menentukan sampel sebagai berikut :

Kriteria inklusi :

1. Tikus putih *wistar*
2. Berat badan 150 - 200 gram
3. Sehat (gerak aktif, mata jernih, berbulu putih, dan tidak cacat)
4. Umur 2-3 bulan



Kriteria eksklusif :

1. **as** Tikus yang sakit atau mati saat randomisasi, selama masa

adaptasi, dan selama proses penelitian berlangsung

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan, jumlah sampel setiap kelompok (r) pada setiap kelompok perlakuan (t) dihitung berdasarkan rumus Federer (1983):

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

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

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

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

$$4r-4 \geq 15$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 4,75$$

$$r \geq 5$$

Didapatkan jumlah sampel yang digunakan untuk setiap kelompok sebanyak 5 tikus dan terdapat 5 kelompok sehingga penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus. Dalam upaya mengantisipasi apabila ada tikus yang *drop out* sebelum penelitian selesai dilakukan, maka diperlukan sampel tambahan.



Berdasarkan rumus sampel terkoreksi kemungkinan adanya sampel *drop out* sebanyak 10%, sehingga dilakukan perhitungan sebagai berikut (Federer, 1983):

$$N = n / (1-f)$$

Keterangan :

N : Besar sampel koreksi

n : Besar sampel awal

f : Perkiraan proporsi *drop out* 10%

$$N = n / (1-f)$$

$$N = 5 / (1-0,1)$$

$$N = 5 / 0,9$$

$$N = 6$$

Sehingga sampel

yang digunakan pada setiap kelompok sebanyak 6 ekor tikus. Oleh karena itu total sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 30 ekor tikus yang terbagi dalam 5 kelompok.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dan Monosodium glutamat (MSG)

4.3.2 Variabel Terikat

Ketebalan endometrium tikus putih *wistar*



4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

4.4.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dimulai dengan 7 hari untuk adaptasi hewan coba, kemudian dilanjutkan 28 hari untuk waktu perlakuan dan waktu selanjutnya untuk menganalisis data.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Pemeliharaan Hewan Coba

4.5.1.1 Alat

1. Kandang tikus berupa wadah plastik dengan ukuran 20 cm x 30 cm x 40 cm sebanyak 5 buah
2. Penutup yang terbuat dari kawat berjaring
3. Tempat makan dan minum tikus

4.5.1.2 Bahan

1. Pakan ayam (BR 1)
2. Air mineral
3. Sekam

4.5.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

4.5.2.1 Alat

1. Gelas ukur
2. Pipet



3. Pengaduk
4. Tabung reaksi
5. Neraca analitik
6. Mesh untuk maserasi brokoli
7. *Rotary evaporator* dan *vakum drying* untuk mengilangkan pelarut pada maserasi
8. *Overheat stirrer* untuk mengaduk simplisia dan etanol
9. Filter berukuran 0,2-0,4 μ untuk filtrasi sediaan ekstrak

4.5.2.2 Bahan

1. Simplisia Brokoli
2. Etanol 70%

4.5.3 Pembuatan Dosis Monosodium Glutamat (MSG)

4.5.3.1 Alat

1. Spuit
2. Pengaduk
3. Tabung reaksi

4.5.3.2 Bahan

1. Monosodium glutamat merk TCI
2. Aquades

4.5.4 Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli dan Monosodium Glutamat

4.5.4.1 Alat

1. Gelas beaker
2. Spuit



3. Pengaduk
4. Sonde

4.5.4.2 Bahan

1. Ekstrak Etanol Brokoli
2. Monosodium Glutamat
3. Aquades

4.5.5 Pengambilan dan Pewarnaan Sampel Swab Vagina

4.5.5.1 Alat

1. Cutton bud
2. Objek glass
3. Mikroskop

4.5.5.2 Bahan

1. Alkohol absolut
2. Larutan giemsa
3. NaCl 0,9%

4.5.6 Pengambilan Organ Endometrium

4.5.6.1 Alat

1. Stoples kaca tertutup
2. Alat bedah minor (scalpel, pinset, gunting)
3. Papan untuk meja pembedahan

4.5.6.2 Bahan

1. Kapas
2. Ketamin dalam sediaan 100 mg/10 ml yang diberikan dengan dosis 10 mg/kgBB tikus
3. Formalin 10%

1. Repository Universitas Brawijaya
2. Repository Universitas Brawijaya
3. Repository Universitas Brawijaya
4. Repository Universitas Brawijaya
5. Repository Universitas Brawijaya
6. Repository Universitas Brawijaya
7. Repository Universitas Brawijaya
8. Repository Universitas Brawijaya
9. Repository Universitas Brawijaya
10. Repository Universitas Brawijaya
11. Repository Universitas Brawijaya
12. Repository Universitas Brawijaya
13. Repository Universitas Brawijaya
14. Repository Universitas Brawijaya
15. Repository Universitas Brawijaya
16. Repository Universitas Brawijaya
17. Repository Universitas Brawijaya
18. Repository Universitas Brawijaya
19. Repository Universitas Brawijaya
20. Repository Universitas Brawijaya

29

1. Repository Universitas Brawijaya
2. Repository Universitas Brawijaya
3. Repository Universitas Brawijaya
4. Repository Universitas Brawijaya
5. Repository Universitas Brawijaya
6. Repository Universitas Brawijaya
7. Repository Universitas Brawijaya
8. Repository Universitas Brawijaya
9. Repository Universitas Brawijaya
10. Repository Universitas Brawijaya
11. Repository Universitas Brawijaya
12. Repository Universitas Brawijaya
13. Repository Universitas Brawijaya
14. Repository Universitas Brawijaya
15. Repository Universitas Brawijaya
16. Repository Universitas Brawijaya
17. Repository Universitas Brawijaya
18. Repository Universitas Brawijaya
19. Repository Universitas Brawijaya
20. Repository Universitas Brawijaya



4.5.7 Pembuatan Slide Histopatologi Endometrium

4.5.7.1 Alat

1. Mikrotom
2. Tissue tex processor
3. Objek glass
4. Inkubator

4.5.7.2 Bahan

1. Formalin 10%
2. NaCl
3. Xylol
4. Paraffin cair
5. Etanol (70%, 80%, 90%, 95%, 100%)
6. Alkohol asam 1%
7. Cat Harris Hematoksilin
8. Cat eosin 1%
9. Water bath

4.5.8 Pengukuran Ketebalan Endometrium

4.5.8.1 Alat

- Mikroskop *Olympus BX51*

4.5.8.2 Bahan

- Preparat histologi endometrium



4.6 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala Ukur
Monosodium Glutamat (MSG)	Monosodium glutamat (MSG) yang digunakan adalah Monosodium glutamat merk TCI yang berbentuk seperti kristal putih dan dilarutkan dengan aquades	Timbangan analitik	Rasio
Ekstrak Etanol Brokoli (<i>Brassica oleracea</i>)	Simplisia brokoli (<i>Brassica oleracea</i>) diperoleh dari Balai Tanaman Obat Materia Medika, Batu. Selanjutnya diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.	Timbangan analitik	Rasio
Ketebalan Endometrium	Ketebalan endometrium diukur dengan menghitung rerata dari 10 titik di endometrium pada setiap sayatan transversal setelah dilakukan pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) yang diamati menggunakan	Mikroskop Olympus BX51 dan software OlyVIA	Rasio



mikroskop <i>Olympus BX51</i> dan diukur menggunakan software <i>OlyVIA</i> dengan satuan ketebalan endometrium adalah μm		
--	--	--

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

Brokoli (*Brassica oleracea*) yang digunakan sebanyak 1000 gram, yang dikeringkan dan dihaluskan menjadi bentuk serbuk. Simplisia brokoli yang telah menjadi serbuk diperoleh dari Balai Tanaman Obat Materia Medika kota Batu kemudian di ekstraksi dengan metode maserasi selama 24 jam menggunakan pelarut etanol 70%. Serbuk brokoli direndam dengan 900 ml larutan etanol 70% selama 24 jam yang terlindung dari sinar cahaya. Selama perendaman dilakukan pengadukan setiap hari selama 15 menit. Setelah itu dilakukan penyaringan, hasil penyaringan ditampung dalam labu *Elenmeyer* kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak pekat.

Perhitungan pemberian ekstrak etanol brokoli :

Tikus dengan BB 180 gram

1. Dosis I : $500 \text{ mg/kgBB} = 0,09 \text{ gr/tikus}$

2. Dosis II : $1000 \text{ mg/kgBB} = 0,18 \text{ gr/tikus}$



3. Dosis III : $2000 \text{ mg/kgBB} = 0,36 \text{ gr/tikus}$

Dosis I : $0,09 \text{ gr/tikus}$

Volume stok = volume sonde (ml) x jumlah tikus x waktu (hari)

$$= 1 \times 6 \times 7$$

$$= 42 \text{ ml}$$

Konsentrasi stok = konsentrasi x jumlah tikus x waktu (hari)

$$= 0,09 \times 6 \times 7$$

$$= 3,78 \text{ gram}$$

Sehingga didapatkan larutan stok sebesar 3,78 gr/42ml. Artinya

3,78 gram ekstrak dilarutkan dalam 42 ml aquades sebagai

larutan stok dosis I selama 7 hari yang diberikan sebanyak 1 cc

untuk setiap tikus.

Dosis II : $0,18 \text{ gr/tikus}$

Volume stok = volume sonde (ml) x jumlah tikus x waktu (hari)

$$= 1 \times 6 \times 7$$

$$= 42 \text{ ml}$$

Konsentrasi stok = konsentrasi x jumlah tikus x waktu (hari)

$$= 0,18 \times 6 \times 7$$

$$= 7,56 \text{ gram}$$

Sehingga didapatkan larutan stok sebesar 7,56 gr/42ml. Artinya

7,56 gram ekstrak dilarutkan dalam 42 ml aquades sebagai

larutan stok dosis II selama 7 hari yang diberikan sebanyak 1 cc

untuk setiap tikus.



Dosis III : 0,36 gr/tikus

Volume stok = volume sonde (ml) x jumlah tikus x waktu (hari)

$$= 1 \times 6 \times 7$$

$$= 42 \text{ ml}$$

Konsentrasi stok = konsentrasi x jumlah tikus x waktu (hari)

$$= 0,36 \times 6 \times 7$$

$$= 15,12 \text{ gram}$$

Sehingga didapatkan larutan stok sebesar 15,12 gr/42ml. Artinya

15,12 gram ekstrak dilarutkan dalam 42 ml aquades sebagai larutan stok dosis III selama 7 hari yang diberikan sebanyak 1 cc untuk setiap tikus.

4.7.2 Pembuatan Dosis Monosodium Glutamat (MSG)

MSG yang digunakan adalah Monosodium glutamat merk

TCI dengan dosis 0,7 mg/gBB. Pembuatan dosis MSG dengan melarutkan monosodium glutamat dengan dosis 0,7 mg/gBB ke dalam aquades.

Perhitungan pemberian Monosodium Glutamat (MSG) :

1. Tikus dengan BB 180 gram

$$\text{Dosis} : 0,7 \text{ mg/gBB} = 0,126 \text{ gr/tikus}$$

2. Volume stok = volume sonde (ml) x jumlah tikus x waktu (hari)

$$= 1 \times 24 \times 7$$

$$= 168 \text{ ml}$$



$$\begin{aligned} \text{3. Konsentrasi stok} &= \text{konsentrasi} \times \text{jumlah tikus} \times \text{waktu (hari)} \\ &= 0,126 \times 24 \times 7 \\ &= 21,168 \text{ gram} \end{aligned}$$

Sehingga didapatkan larutan stok sebesar 21,168 gr/168ml.

Artinya 21,168 gram ekstrak dilarutkan dalam 168 ml aquades sebagai larutan stok selama 7 hari yang diberikan sebanyak 1 cc untuk setiap tikus.

4.7.3 Aklimatisasi Hewan Coba

Tikus diadaptasikan dahulu selama 7 hari untuk penyesuaian diri dengan lingkungan laboratorium. Tikus dibiarkan dalam kandang tanpa diberi perlakuan tetapi tetap diberi makan berupa pakan ayam BR 1 dan minum berupa air mineral. Tikus ditempatkan pada kandang dengan cahaya ruang, suhu ruang dan lingkungan yang kondusif.

4.7.4 Pembagian Kelompok

Jumlah hewan coba pada penelitian ini adalah 30 ekor tikus putih betina, yang dibagi menjadi 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan:

- **Kelompok kontrol negatif (KN):**

Tidak dipapar Monosodium glutamat (MSG) dan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*)

- **Kelompok kontrol positif (KP):**

Dipapar Monosodium glutamat (MSG) 0,7 mg/gBB dan tidak diberi paparan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*)

36

- Kelompok perlakuan 1 (PI):
Dipapar Monosodium glutamat (MSG) 0,7 mg/gBB dan ekstrak etanol brokoli (*Brassica olaracea*) 500 mg/kgBB
 - Kelompok perlakuan 2 (PII):
Dipapar Monosodium glutamat (MSG) 0,7 mg/gBB dan ekstrak etanol brokoli (*Brassica olaracea*) 1000 mg/kgBB
 - Kelompok perlakuan 3 (PIII):
Dipapar Monosodium glutamat (MSG) 0,7 mg/gBB dan ekstrak etanol brokoli (*Brassica olaracea*) 2000 mg/kgBB

4.7.5 Pemberian Monosodium Glutamat dan Ekstrak Etanol Brokoli

Pemberian monosodium glutamat dan ekstrak etanol brokoli akan diberikan 1 x/hari secara per oral dengan menggunakan sonde. Pemberian MSG dilakukan sebelum pemberian ekstrak etanol brokoli dengan dosis 0,7 mg/kgBB yang dilarutkan dalam aquades. Sedangkan ekstrak etanol brokoli diberikan 2 jam setelah pemberian MSG dengan dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB yang dilarutkan dalam aquades.

4.7.6 Pengambilan dan Pewarnaan Sampel Swab Vagina

Swab vagina dilakukan setelah randomisasi tikus menjadi 5 kelompok dan sebelum dilakukan pembedahan pada tikus untuk mengetahui fase proestrus tikus dengan melihat gambaran dari jaringan epitel vagina tikus. Pengambilan dan pewarnaan sampel swab vagina sebagai berikut:



Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository

1. *Cutton bud* dimasukkan dalam larutan NaCl 0,9 % kemudian dimasukkan ke dalam vagina tikus
2. Mengoleskan hasil swab vagina dari *cutton bud* ke objek *glass*, tunggu sampai kering. Setelah kering, masukkan ke dalam larutan alkohol absolut selama 3 menit untuk fiksasi. Angkat objek *glass* dan cuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan.
3. Objek *glass* dimasukkan ke dalam larutan *giemsa* selama 15 menit, angkat dan bilas dengan air mengalir, kemudian keringkan.
4. Mengamati apusan sel epitel vagina menggunakan mikroskop

4.7.7 Pengambilan Organ Uterus

Pembedahan dilakukan setelah perlakuan selama 30 hari pada tikus yang berada di fase proestrus yang diketahui dari hasil pemeriksaan swab vagina. Berikut adalah tahap pembedahan tikus :

1. Mempersiapkan alat dan bahan yang digunakan untuk pembedahan minor (pinset, gunting, scalpel, papan bedah, kertas saring, ketamin 10 mg/kgBB, formalin 10% dan stoples kaca tertutup untuk tempat organ tikus)
2. Tikus diterminasi dengan diberi anastesi menggunakan ketamin 10 mg/kgBB, kemudian ditunggu beberapa menit sampai tikus benar-benar mati (tidak bergerak lagi).



3. Tikus yang sudah mati diletakkan diatas alas papan. Dinding perut dibuka dengan sayatan secara hati-hati (jika perlu dapat dicukur bulu yang berada pada perut tikus yang akan dibedah)
4. Uterus diambil secara hati-hati dengan cara menggunting bagian isthmus tuba fallopi kiri dan kanan (bagian yang paling dekat dengan uterus) dan pada bagian ekor (batas antara servix dan uterus).
5. Uterus dibersihkan dari seluruh ligamen yang melekat. Selanjutnya uterus dibersihkan dari darah dengan NaCl 0,9% kemudian ditiriskan menggunakan kertas saring
6. Kemudian dimasukkan kedalam botol yang berisi larutan fixative buffer formalin 10%
7. Organ dikirim untuk pemrosesan menjadi preparat di Laboratorium Patologi Anatomi FKUB
8. Bangkai tikus yang tersisa dan tidak digunakan lagi dikubur dengan aman

4.7.8 Pembuatan Histopatologi

Proses pemotongan jaringan berupa makroskopik

1. Jaringan uterus difiksasi dengan larutan buffer formalin 10%
2. Jaringan dipotong secara transversal dengan ketebalan 2-3 milimeter
3. Jaringan dimasukkan ke kaset dan diberi kode sesuai dengan nomer kode dari peneliti
4. Jaringan dimasukkan ke larutan formalin 10%



Repository Universitas Brawijaya

Repository

5. Jaringan diproses dengan cara direndam dalam alkohol 70%, 80%, 95% selama 30 menit dan alkohol absolut selama 45 menit
6. Jaringan dimasukkan dalam 2 tabung larutan xylol selama 30 menit

Pengeblokan dan pemotongan jaringan

1. Jaringan di blok dengan paraffin sesuai kode jaringan
2. Jaringan dipotong menggunakan alat mikrotom dengan ketebalan 3-5 mikron

Proses Deparafinasi

Setelah disayat atau dipotong dengan ketebalan 3-5 mikron, ditaruh dalam oven selama 30 menit dengan suhu 70-80°C, kemudian dimasukkan ke dalam 2 tabung larutan xylol masing-masing 20 menit, setelah itu dimasukkan ke-4 tabung alkohol masing-masing tempat 3 menit (hidrasi) dan yang terakhir dimasukkan air mengalir selama 15 menit.

Proses Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)

1. Cat utama Harris Hematoksilin selama 10-15 menit
2. Cuci dengan air mengalir selama 15 menit
3. Alkohol asam 1% 2-5 celup
4. Amonia air 3-5 celup
5. Cat pemberbanding eosin 1% selama 10-15 menit

Dehidrasi

1. Alkohol 70% selama 3 menit
2. Alkohol 80% selama 3 menit



3. Alkohol 90% selama 3 menit

4. Alkohol 95% selama 3 menit

Penjernihan

1. Xylol I selama 60 menit

2. Xylol II selama 60 menit

Mounting dengan Entelan dan Coverglass

1. Biarkan slide kering pada suhu ruangan

2. Setelah slide kering siap untuk diamati

4.7.9 Pengukuran Ketebalan Endometrium dengan Mikroskop

Olympus BX51 dan Software OlyVIA

Preparat histologi endometrium dikonsultasikan kepada ahli Patologi Anatomi (PA) untuk pembacaan hasil preparat batas pengukuran ketebalan endometrium dari lumen epitel sampai lapisan basalis endometrium. Ketebalan endometrium dihitung pada rata-rata dari 10 titik disetiap endometrium pada sayatan transversal setelah dilakukan pembuatan preparat histopatologi.

Pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan secara mikroskopis menggunakan mikroskop Olympus BX51 terhadap preparat histologis endometrium dengan perbesaran 400x dengan satuan ketebalan endometrium adalah μm .

4.8 Analisi Data

Dalam analisa data ini dilakukan beberapa tahapan, yaitu uji normalitas data sampel dengan uji Shapiro Wilk, uji homogenitas dengan uji Leuvene's dan uji hipotesa dengan One Way Anova.

Uji normalitas data digunakan untuk mengetahui sebaran data normal. Uji normalitas yang digunakan adalah uji Shapiro-Wilk dengan melihat nilai probabilitas kesalahan empirik p -value, jika $p > 0,05$ maka disimpulkan data tersebut terdistribusi normal.

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas pada penelitian ini menggunakan uji Leuvene's. Pembacaan hasil dengan melihat nilai probabilitas kesalahan empirik p -value, jika nilai $p > 0,05$ maka disimpulkan data homogen.

3. Uji Hipotesa

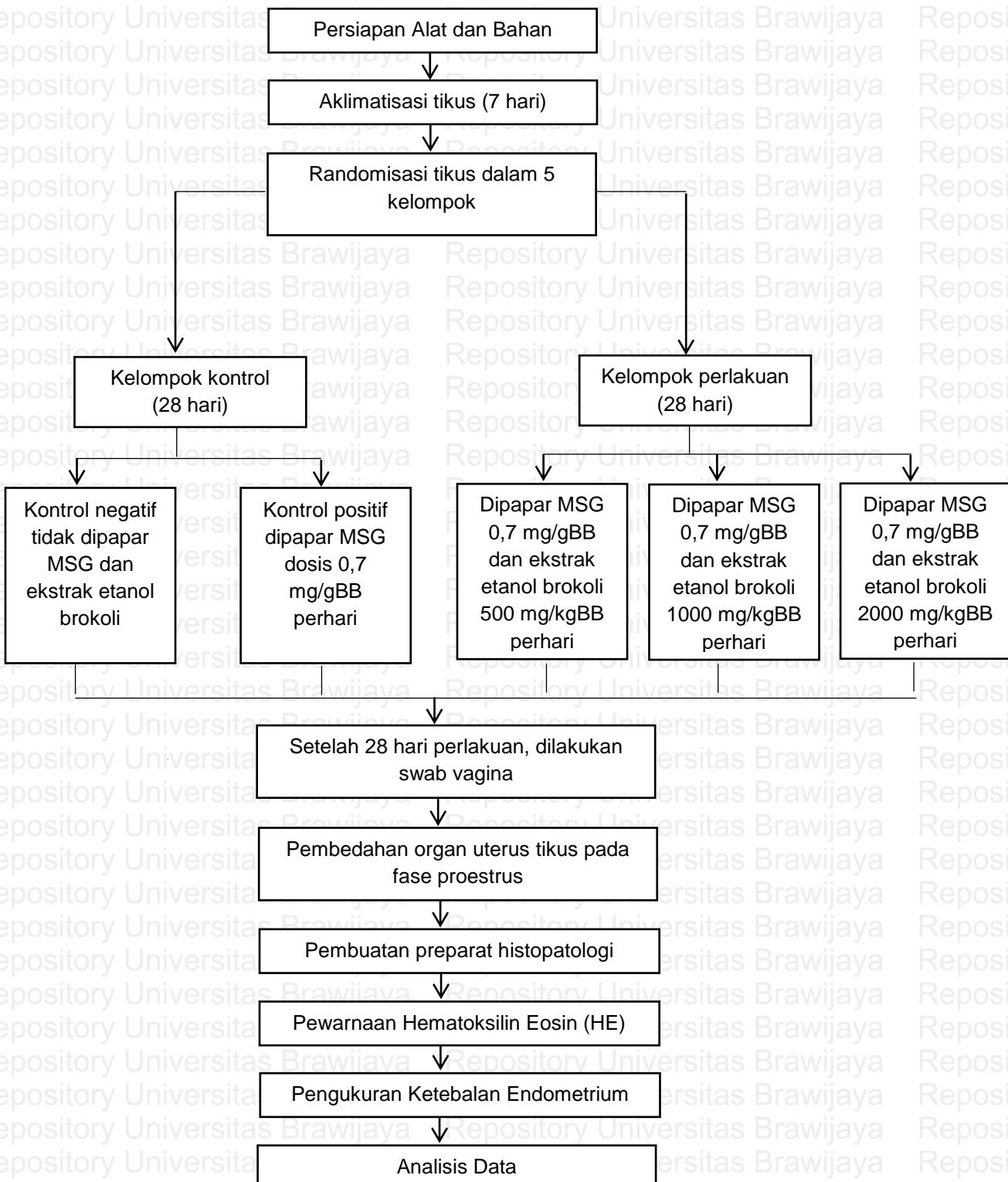
Uji hipotesa menggunakan One Way Anova untuk mengukur rerata variabel terukur antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Analisa ini dilakukan terhadap ketebalan endometrium hewan coba dengan tujuan mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap peningkatan ketebalan endometrium tikus yang dipapar MSG.

Jika pada uji One Way Anova menghasilkan data adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) atau H_0 ditolak dan H_1 diterima maka dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap peningkatan ketebalan endometrium tikus yang dipapar MSG. Uji *post hoc test* dengan menggunakan uji *Least Significant Difference* (LSD) dilakukan untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan rata-rata ketebalan endometrium pada masing-masing kelompok

sampel. Jika pada uji LSD didapatkan nilai $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dan sebaliknya jika nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata ketebalan endometrium.



4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur penelitian



5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *True Eksperimental Laboratorium* yang dilakukan di laboratorium Farmakologi, laboratorium Parasitologi dan laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang dengan menggunakan 30 ekor tikus putih betina sebagai hewan coba yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai sampel penelitian.

Penelitian ini berlangsung dari bulan Februari sampai April 2019 yang dimulai dengan aklimatisasi hewan coba selama 7 hari, kemudian dilanjutkan dengan perlakuan selama 28 hari. Swab vagina tikus dilakukan terlebih dahulu sebelum pembedahan untuk menentukan fase proestrus tikus.

Pengukuran ketebalan endometrium dilakukan dengan mengambil organ uterus tikus kemudian dimasukkan ke dalam botol tertutup yang telah diisi dengan formalin 10%. Organ uterus dikirim ke laboratorium Patologi Anatomi FKUB untuk dilakukan pembuatan slide histopatologi dan pewarnaan *Hematoksilin Eosin (HE)*. Slide histopatologi diamati menggunakan mikroskop *Olympus BX51* dengan perbesaran 400x kemudian dikonsultasikan kepada ahli Patologi Anatomi untuk pembacaan batas pengukuran ketebalan endometrium yaitu dari lumen epitel sampai lapisan basalis endometrium. Pengukuran ketebalan endometrium diukur menggunakan software *OlyVIA* dengan satuan ketebalan endometrium adalah μm .

5.1.1 Ketebalan Endometrium Tikus Putih *Wistar* yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG) dan diberi Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)



Gambar 5.1 Hasil Pengamatan Mikroskopis Ketebalan Endometrium Tikus Putih *Wistar* yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG) dan diberi Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

Keterangan :

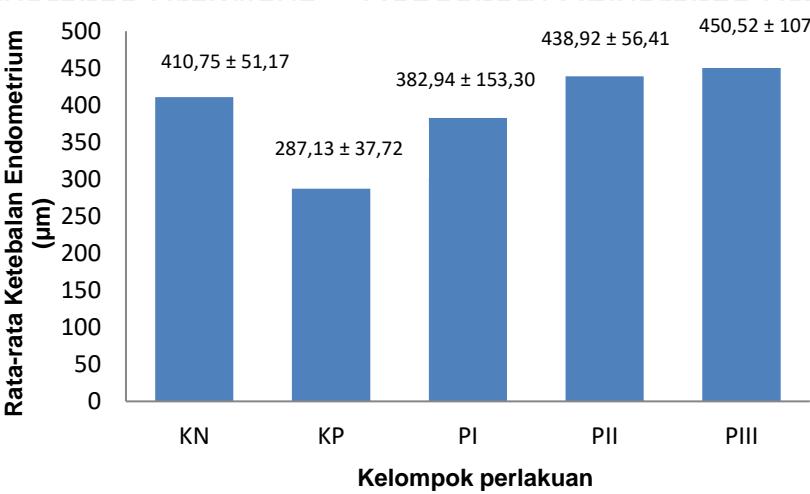
a : lumen, b : endometrium, c : miometrium, d : perimetrium

Gambaran mikroskopis endometrium tikus kelompok Kontrol Negatif (KN), Kontrol Positif (KP), Perlakuan I (PI), Perlakuan II (PII), dan Perlakuan III (PIII) dengan pewarnaan HE dan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x. Pengukuran ketebalan endometrium ditunjukkan oleh tanda panah (→).



Berdasarkan gambar 5.1 tampak bahwa ketebalan endometrium yang paling tipis yaitu pada kelompok kontrol positif yang hanya dipapar MSG tanpa diberi ekstrak etanol brokoli. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan I, II, dan III yang dipapar MSG dan diberi ekstrak etanol brokoli memiliki endometrium yang lebih tebal.

Rata-rata ketebalan endometrium pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada grafik sebagai berikut :



Gambar 5.2 Grafik Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*) Terhadap Ketebalan Endometrium Tikus Putih Wistar yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG)

Keterangan :

KN : Kontrol Negatif (tidak dipapar MSG dan ekstrak brokoli)

KP : Kontrol Positif (dipapar MSG 0,7 mg/gBB)

PI : Perlakuan I (dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak brokoli 500 mg/kgBB)

PII : Perlakuan II (dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak brokoli 1000 mg/kgBB)

PIII : Perlakuan III (dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak brokoli 2000 mg/kgBB)

Berdasarkan grafik pada Gambar 5.2 menunjukkan adanya penurunan ketebalan endometrium yang paling rendah yaitu pada kelompok kontrol positif dengan rata-rata ketebalan endometrium 287,13 μm . Penurunan ketebalan endometrium pada kelompok kontrol positif ini menunjukkan adanya pengaruh dari pemaparan MSG terhadap ketebalan endometrium. Pada kelompok perlakuan I memiliki rata-rata ketebalan endometrium 382,94 μm ,



perlakuan II memiliki rata-rata ketebalan endometrium 438,92 μm , dan perlakuan III memiliki rata-rata ketebalan endometrium 450,52 μm . Hal ini menunjukkan adanya peningkatan rata-rata ketebalan endometrium pada kelompok perlakuan I, II, dan III dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Peningkatan ketebalan endometrium pada kelompok perlakuan ini menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap peningkatan ketebalan endometrium tikus yang dipapar MSG.

5.2 Hasil Analisis Data

5.2.1 Uji Normalitas Ketebalan Endometrium Tikus Putih *Wistar* yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG) dan diberi Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

Hasil analisis data pada uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dengan melihat nilai probabilitas kesalahan empirik *p-value*, jika *p* > 0,05 maka data terdistribusi normal dan sebaliknya jika *p* < 0,05 maka data tidak terdistribusi normal.

Tabel 5.1 Hasil Uji Normalitas Ketebalan Endometrium Tikus Putih *Wistar* yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG) dan diberi Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

Variabel	Pengujian Asumsi	Koefisien	<i>p-value</i>	Keterangan
Ketebalan Endometrium	Normalitas	0,975	0,693	Normal

Berdasarkan tabel 5.1 data hasil uji normalitas menunjukkan bahwa nilai *p* = 0,693 untuk ketebalan endometrium, sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal.



5.2.2 Uji Homogenitas Ketebalan Endometrium Tikus Putih *Wistar* yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG) dan diberi Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

Hasil analisis data pada uji homogenitas menggunakan uji *Leuvene's* dengan melihat nilai probabilitas kesalahan empirik *p-value*, jika $p > 0,05$ maka disimpulkan data homogen dan sebaliknya jika $p < 0,05$ maka data tidak homogen.

Tabel 5.2 Hasil Uji Homogenitas Ketebalan Endometrium Tikus Putih *Wistar* yang dipapar MSG dan diberi Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

Variabel	Pengujian Asumsi	Koefisien	<i>p-value</i>	Keterangan
Ketebalan Endometrium	Homogenitas	0,820	0,525	Homogen

Berdasarkan tabel 5.2 data hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa nilai $p = 0,525$ untuk ketebalan endometrium, sehingga dapat disimpulkan bahwa data homogen.

5.2.3 Uji Hipotesa Ketebalan Endometrium Tikus Putih *Wistar* yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG) dan diberi Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

Analisis data pada uji hipotesa menggunakan uji *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap peningkatan ketebalan endometrium tikus yang dipapar MSG. Jika pada uji *One Way Anova* didapatkan adanya perbedaan yang signifikan $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap peningkatan ketebalan endometrium tikus yang dipapar MSG.



Tabel 5.3 Hasil Uji Anova data Ketebalan Endometrium Tikus Putih *Wistar* yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG) dan diberi Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

Kelompok	Rata-rata ketebalan endometrium (μm) Mean \pm SD	p-value
Kontrol Negatif (tidak dipapar MSG + brokoli)	410,75 \pm 51,17	
Kontrol Positif (dipapar MSG 0,7 mg/gBB)	287,13 \pm 37,72	
PI (dipapar MSG + brokoli 500 mg/kgBB)	382, 94 \pm 153,30	0,036
PII (dipapar MSG + brokoli 1000 mg/kgBB)	438,92 \pm 56,41	
PIII (dipapar MSG + brokoli 2000 mg/kgBB)	450,52 \pm 107,05	

Berdasarkan tabel 5.3 data hasil uji hipotesa dengan *One Way Anova* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada rata-rata ketebalan endometrium kelima kelompok sampel dengan *p-value* = 0,036 sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang signifikan pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap peningkatan ketebalan endometrium tikus yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG).

Uji *post hoc test* dengan menggunakan uji *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan rata-rata ketebalan endometrium pada masing-masing kelompok. Jika pada uji LSD didapatkan nilai $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dan sebaliknya jika nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan.



Tabel 5.4 Hasil Uji LSD data Ketebalan Endometrium Tikus Putih *Wistar* yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG) dan diberi Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)

Perbandingan kelompok		Beda rata-rata	p-value
KN	KP	123,61	0,028
	PI	27,81	0,605
	PII	-28,17	0,600
	PIII	-39,77	0,460
KP	PI	-95,80	0,083
	PII	-151,79	0,008
	PIII	-163,38	0,005
	PI	-55,99	0,301
PI	PII	-67,58	0,214
	PIII	-11,59	0,829

Keterangan :

KN : Kontrol Negatif (tidak dipapar MSG dan ekstrak brokoli)

KP : Kontrol Positif (dipapar MSG 0,7 mg/gBB)

PI : Perlakuan I (dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak brokoli 500 mg/kgBB)

PII : Perlakuan II (dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak brokoli 1000 mg/kgBB)

PIII : Perlakuan III (dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak brokoli 2000 mg/kgBB)

Berdasarkan tabel 5.4 data hasil uji LSD menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada rata-rata ketebalan endometrium antara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif yang ditunjukkan oleh nilai $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa pemaparan MSG mengakibatkan penurunan ketebalan endometrium secara signifikan. Pada kelompok kontrol negatif yang dibandingkan dengan kelompok perlakuan I, II, dan III didapatkan nilai $p > 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata ketebalan endometrium. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak brokoli pada dosis I, II, dan III mampu meningkatkan ketebalan endometrium karena memiliki rata-rata ketebalan endometrium yang relatif sama dengan kelompok kontrol negatif.

Pada kelompok kontrol positif yang dibandingkan dengan kelompok perlakuan I didapatkan nilai $p > 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata ketebalan endometrium. Hal ini berarti pada pemberian ekstrak brokoli dengan dosis I terdapat peningkatan ketebalan endometrium, namun peningkatan yang terjadi tidak signifikan yang berarti pemberian ekstrak brokoli dengan dosis I tidak mampu meningkatkan ketebalan endometrium secara optimal. Perbandingan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan II dan III didapatkan nilai $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata ketebalan endometrium. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak brokoli dengan dosis II dan III mampu meningkatkan ketebalan endometrium secara signifikan.

Perbandingan antara kelompok perlakuan I dengan kelompok perlakuan II dan III didapatkan nilai $p > 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata ketebalan endometrium. Pada kelompok perlakuan II yang dibandingkan dengan kelompok perlakuan III juga didapatkan nilai $p > 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata ketebalan endometrium. Hal ini menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan I, II, dan III terjadi peningkatan endometrium dan mampu meningkatkan ketebalan endometrium tikus yang dipapar MSG, namun peningkatan yang terjadi tidak berbeda signifikan antara ketiga kelompok dosis tersebut.



Pada penelitian ini didapatkan bahwa perlakuan terbaik yang mampu meningkatkan ketebalan endometrium paling optimal adalah pada dosis II (ekstrak etanol brokoli 1000 mg/kgBB). Hal ini dikarenakan pada pemberian ekstrak etanol brokoli dengan dosis 1000 mg/kgBB mulai menunjukkan adanya peningkatan ketebalan endometrium yang berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan didapatkan rata-rata ketebalan endometrium yang relatif sama dengan kelompok kontrol negatif.



6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

6.1.1 Pengaruh Monosodium Glutamat (MSG) terhadap Ketebalan Endometrium

Pada penelitian ini menunjukkan hasil bahwa pemaparan Monosodium Glutamat (MSG) mengakibatkan penurunan ketebalan endometrium. Hasil ini dibuktikan dengan adanya penurunan ketebalan endometrium pada kelompok kontrol positif dengan rata-rata ketebalan endometrium yang lebih rendah yaitu $287,13 \pm 37,72 \mu\text{m}$ dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dengan rata-rata ketebalan endometrium $410,75 \pm 51,17 \mu\text{m}$.

Penurunan ketebalan endometrium yang terjadi disebabkan karena Monosodium Glutamat (MSG) memiliki sifat neurotoksik yang mampu menyebabkan kerusakan nukleus arkuata di hipotalamus sehingga mengganggu fungsi hipotalamus-pituitari (Camihort, et al., 2005). Dash & Ghosh (2011) melaporkan bahwa MSG yang diberikan secara berlebihan pada tikus betina menunjukkan adanya penurunan kadar estradiol dan jumlah folikel de graaf yang diakibatkan oleh terjadinya gangguan pada hipotalamus. Kerusakan pada hipotalamus menyebabkan terganggunya sekresi *Follikel Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH), akibatnya terjadi gangguan pada pematangan folikel dan penurunan kadar hormon estrogen. Hormon estrogen memiliki peran penting dalam siklus menstruasi serta proliferasi endometrium (Speroff & Fritz, 2005).

BAB 6

PEMBAHASAN



Repository Universitas Brawijaya

Repository

Pada penelitian yang dilakukan oleh Megawati, dkk (2005) dan Eweka and Om'Inibohs (2007) didapatkan hasil bahwa MSG menyebabkan penurunan kadar *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) yang mengakibatkan menurunnya sekresi *Follikel Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) oleh hipofisis anterior sehingga menyebabkan gangguan pematangan folikel yang berakibat terjadinya penurunan sekresi hormon estrogen. Penurunan sekresi hormon estrogen menyebabkan perubahan pada histologi endometrium seperti penipisan ketebalan endometrium, berkurangnya diameter pembuluh darah, perubahan konfigurasi kelenjar dan stroma semakin longgar.

Hormon estrogen menstimulasi sel epitel dan stroma endometrium untuk berproliferasi sehingga dapat meningkatkan ketebalan endometrium dan membantu endometrium dalam persiapan untuk konsepsi (Guyton & Hall, 2016).

6.1.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap Ketebalan Endometrium pada Tikus Putih yang Dipapar Monosodium Glutamat (MSG)

Pada penelitian ini menunjukkan hasil bahwa pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) pada pemberian dengan dosis I, II, dan III mengakibatkan adanya peningkatan ketebalan endometrium dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hasil ini dibuktikan dengan adanya peningkatan ketebalan endometrium pada kelompok perlakuan I (dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak brokoli 500 mg/kgBB) memiliki rata-rata ketebalan endometrium $382,94 \pm 153,30 \mu\text{m}$, kelompok perlakuan II (dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak brokoli 1000 mg/kgBB) memiliki rata-rata ketebalan endometrium $438,92 \pm 56,41 \mu\text{m}$, dan kelompok perlakuan III

(dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak brokoli 2000 mg/kgBB) memiliki rata-rata ketebalan endometrium $450,52 \pm 107,05 \mu\text{m}$.

Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sielma (2015) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol brokoli dengan dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga dapat menurunkan kadar *Malondialdehid* (MDA) hepar tikus putih yang diinduksi DMBA (*7,12-Dimethylbenz(a)antracene*). Berdasarkan hasil penelitian Sielma (2015) tersebut, mendukung bahwa ekstrak etanol brokoli memiliki aktivitas antioksidan yang baik.

Penelitian yang dilakukan oleh Lutfiyati, dkk (2017) menunjukkan bahwa dari hasil skrining fitokimia ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) yang diperoleh dari hasil maserasi dengan etanol 96%, didapatkan adanya kandungan senyawa *alkaloid*, *saponin*, *tanin*, *steroid* dan *flavonoid* yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antibakteri, anti tumor, antidiabetes dan anti inflamasi.

Flavonoid sebagai salah satu senyawa antioksidan dalam brokoli yang berperan menghambat radikal bebas dengan cara memberikan donor atom hidrogen dari gugus hidroksil flavonoid sehingga menghasilkan radikal stabil (Neldawati, 2013). Flavonoid berfungsi sebagai *chain breaking antioxidant* atau pemutus reaksi berantai dari radikal bebas (Huang et al., 2002).

Antioksidan mampu menstimulasi sel theca interstisial, mengontrol pertumbuhan dan atresia folikel, merangsang steroidogenesis serta memberikan rangsangan mekanis pada folikel di ovarium, sehingga folikel



dapat berkembang kemudian terjadi sekresi hormon estrogen yang mampu menstimulasi pertumbuhan endometrium (Ruder et al., 2008).

6.2 Implikasi Terhadap Bidang Kebidanan

Konsumsi Monosodium Glutamat (MSG) yang berlebihan dapat mengakibatkan penurunan ketebalan endometrium. Penurunan ketebalan endometrium dapat menyebabkan ketidaksiapan uterus sebagai tempat implantasi dalam menerima hasil konsepsi sehingga bisa mengakibatkan kegagalan implantasi. Hal ini dikarenakan endometrium memiliki peran dalam persiapan untuk konsepsi, implantasi, awal gestasi dan plasentasi merupakan hal yang penting bagi kehamilan dan fertilitas (Kathryn et al., 2009). Pemberian ekstrak etanol brokoli sebagai antioksidan melalui kandungan flavonoidnya dapat meningkatkan ketebalan endometrium akibat konsumsi MSG yang berlebihan, sehingga dapat mencegah terjadinya kegagalan implantasi atau keguguran.



7.1 Kesimpulan

7.1.1 Monosodium Glutamat (MSG) dapat menurunkan ketebalan endometrium pada tikus putih.

7.1.2 Ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dapat meningkatkan ketebalan endometrium pada tikus putih yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG).

7.2 Saran

7.2.1 Bagi Peneliti

Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian Monosodium Glutamat (MSG) dan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap reseptor estrogen di endometrium yang berperan dalam proliferasi endometrium.

7.2.2 Bagi Masyarakat

Masyarakat dianjurkan untuk tidak mengkonsumsi Monosodium Glutamat (MSG) secara berlebihan karena dapat menyebabkan penurunan ketebalan endometrium yang bisa berakibat pada keguguran.

BAB 7

PENUTUP

**DAFTAR PUSTAKA**

- Akbar, Budhi. 2010. *Tumbuhan dengan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antioksidan*. Jakarta: Adabia Press
- Azeliya, R. M., 2013. *Pembuatan Bolu Brokoli (Brassica Oleracea L) Dilihat Dari Kadar Beta Karoten Dan Kadar Vitamin C Serta Daya Terima*. Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Camihort, G., Dumm C.G., Luna G., Fereze C., Jurad S., and Moreno G. 2005. Relationship Between Pituitary and Adipose Tissue After Hypthalmic Denervatin in Female Rat. Abstracts Cell Tissues Organs 179 (4) : 192-201
- Chemical Economics Handbook (CEH). 2015. *Monosodium Glutamat (MSG)* <https://ihsmarkit.com/products/monosodium-glutamate-chemical-economics-handbook.html>
- Cunningham F.G., Giant N.F., Leveno K.J., Gilstrap L.C., Hauth J.C., Wenstrom K.D. 2005. Obstetri Williams. Twenty Second Edition. Vol 1. McGraw Hill. Hal. 13-15
- Dalimartha, Setiawan. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia jilid 2*. Jakarta: Tribus Agriwidya
- Das, R.S., Ghosh, S.K. 2010. Long Term Effect in Ovaries of the Adult Mice Following Exposure to Monosodium Glutamate During Neonatal Life A Histological Study. *Nepal Medical Collage Journal*. 13 (2) : 77-83
- Eroschenko, V. P., 2008, Atlas Histologi diFiore's dengan Korelasi Fungsional, EGC, Jakarta, h.112
- Eroschenko, V. P., 2012. Atlas Histologi Difiore dengan Korelasi fungsional. Ed 11. Jakarta : EGC
- Erwinanto. 2004. Hubungan Pertumbuhan olikel, Kadar Estradiol, dan Ketebalan Endometrium Hasil Induksi Ovulasi dalam Proses Fertilisasi In Vitro. Tesis. Program Pendidikan Dokter Spesialis I Obstetri Ginekologi. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang
- Eweka, A.O., and Om'Inibohs F.A.E. 2011. Histological Studies of the Effect of Monosodium Glutamat on the Ovaries of Adult Wistar Rats, *Ann Med Health Sci Res*. 1(1): 37-43
- Food and Drug Administration (FDA). 2010. *Overview of Food Ingredients, Additives & Colors* <https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/FoodAdditivesIngredients/ucm094211.htm>



- Gill S. S., Mueller R. W., McGuire P.F., and Pulido O.M. 2001. Potential Target Sites in Peripheral Tissues for Excitatory Neurotransmission and Excitotoxicity. *J. Toxicologic Pathology.* 28 :277
- Gill, S. S., and Pulido O. M., 2002. Glutamate Receptors in Peripheral Tissues : Current Knowledge, Future Research, and Implications for Toxicology, *J Toxicologic Pathology.* 29 : 277
- Guyton, A.C., & Hall, J.E. 2016. *Textbook of Medical Physiology.* Thirteenth Edition. University of Mississippi Medical Center
- Halliwell B and Gutteridge J.M.C., 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine.* Four Edition Oxord University Press Inc. Oxford
- Huang et al. 2002. Effects of Vitamin C and Vitamin E on in vivo Lipid Peroxidation: result of a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 76:549- 55
- Junqueira, L.C and Carneiro J,. 2007. *Basic Histology: Text and Atlas.* Jakarta: EGC
- Kathryn, B.H., Clancy. 2009. Reproductive ecology and the endometrium : physiology, variation, and new directions. *Yearbook of Physical Anthropology.* 52 : 137-154
- Lingga, L., 2010. *Cerdas Memilih Sayuran .* Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.
- Lutfiyati H, Yuliastuti F, Hidayat I.W., Pribadi P., Pradani M.P.K. 2017. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica Oleracea L Var Italica*). Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Magelang
- Marchondes F.K., Bianchi F.J., and Tanno A.P., 2002. Estrous Cycle Staging, *Braz J. Biol.* 62(4a) : 609-614
- Megawati D., Sutarno., Listyawati S., 2005. *Siklus Estrus dan Struktur Histologi Ovarium Tikus Putih (*Rattus Noverrgicus L*) setelah Pemberian Monosodium Glutamat (MSG) secara Oral,* Jurusan Biologi FMIPA. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Muchsin R. 2009. *Pengaruh Pemberian Monosodium Glutamate Terhadap Histologi Endometrium Mencit (*Mus Muculus L*).* Tesis. Sekolah Pasca Sarjana Universitas Sumatera Utara, Medan
- Nalley, W.M.M., et al. 2011. *Determination of Estrus Cycle Based on Vaginal Cytology and Hormone Profile in Tomir Hind.* Journal Veteriner,12(2)
- Neldawati, Ratnawulan, dan Gusnadi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun tanaman Obat.



- Onaolapo, O. J., Onaolapo, A. Y., Akanmu, M. A. & Gbola, O. 2016. „Evidence of Alterations in Brain Structure and Antioxidant Status Following „LowDose“ Monosodium Glutamate Ingestion”, *Pathophysiology*, pp. 1-30.
- Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 23 Tahun 2013 Tentang Batas Maksimum Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Penguat Rasa
- Pham-Huy L., Hue He., and Chuong P. Free Radicals, Antioxidants in Disease And Health. *International Journal of Biomedical Science*. 2008, 4 (2): 89-96
- Prochazkova D., Bousova., and Wilhelmova. Antioxidant And Prooxidant properties Of Flavonoid: Review. *ELSEVIER*, 2011
- Ruder, E.H., Hartman, T.J., Blumberg, J., Goldman, M.B., 2008. Oxidative Stress and Antioxidant : Exposure and Impact on Female Fertility. *Human Reproductive Update*. 14 (4) : 345-357
- Sami F.J dan Rahimah S. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea L. var. Italica*) dengan Metode Dpph (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan METODE ABTS (2,2 azinobis (3- etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat). 2016
- Septadina I. S. 2014. Pengaruh Monosodium Glutamat Terhadap Sistem Reproduksi. Makalah disajikan dalam Seminar Bagian Anatomi di Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Palembang, 16 Januari 2014
- Setiati, S. 2003. *Radikal Bebas, Antioksidan, dan Proses Menua*. Majalah Medika: Jakarta
- Sheerwood L. 2004. *The reproductive system in human physiology from cell to system* (5th edition)
- Shinde A., Ganu J. Dan Naik P. Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress : A Review, *Journal of Dental and Allied Sciences*, 2012, 1(2):pp. 63-66.
- Shivsharan, S.U., and Bhitre M.J. 2013. Antimicrobial Activity of Lactic AcidBacterial Isolats. *International Research Journal of Pharmacy* 4(8).
- Sielma D F. 2015. Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea L. var. italicica.*) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Hepar Tikus Putih Galur Wistar yang Diinduksi DMBA (7,12-Dimethylbenz(a)antracene). Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Jember, Jember
- Sukawan U. Y. 2008. Efek Toksik Monosodium Glutamat (MSG) pada Binatang Percobaan. J. Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia Jakarta. 3 : 306-314



- Speroff, L., Fritz, M.A. 2005. *Female Infertility in : Clinical Gynecology Endocrinology and Infertility*. Seven Edition, PA : Lippincott Williams and Wilkins. Edisi 6. Hal 52-66
- Walker R and Lupien J R. The Safety Evaluation of Monosodium Glutamate. *The Journal of Nutrition*. 2000. Vol 130
- Wahyuni E.D. 2014. Pengaruh Kombinasi Vitamin C dan E Terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen α dan Ketebalan Endometrium Pada Tikus yang Dipajan Monosodium Glutamat. Tugas Akhir. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang
- Wardani, Rizka Nuzula, Elly Nurus Sakinah, and Yudha Nurdian. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Wistar yang Diinduksi DMBA (The Effect of Ethanolic Extract of Broccoli (*Brassica oleracea*) on SGOT and SGPT of Wistar Rats Induced by DMBA). *Pustaka Kesehatan* 4.2, 2016, 196-199.
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas :Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius

Yu Wu., Xiaohong Gao., Xiang Lu., Ji Xi., Shan Jiang., Yin Sun., dan Xiaowei Xi. *Endometrial Thickness Affects the Outcome of In Vitro Fertilization And Embryo Transfer In Normal Responders After GnRH Antagonist Administration*. 2014

Lampiran 1.

SURAT KETERANGAN KELAIKAN ETIK



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia

E-mail : kep.fk@ub.ac.id

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia

341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 · Fax. (62) (0341)

e-mail : kep.fk@

KETERANGAN KELAIKAN ETIK ("ETHICAL CLEARANCE")

No. 16 / EC / KEPK – S1 – KB / 01 / 2019

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA,
SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN,
DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap Kadar SOD dan Jumlah Folikel Ovarium, Jumlah Sel Epitel Sekretorik dan Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi, Jumlah Arteriol dan Ketebalan Endometrium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Betina yang Dipapar Monosodium Glutamat (MSG).

PENELITI : Annisa Istighfari Hernanda R
Flora Nunjil Naprilia
Novi Dwi Palupi
Onnitia Dwi Putri Chusyairi
Theresia Maria Derosari T

UNIT / LEMBAGA : S1 Kebidanan – Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Farmakologi, Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.



Prof. Dr. dr. Moch Istiadjid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr(Hk)
NIPK. 20180246051611001

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan

Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amendemen Protokol).

**DATA KETEBALAN ENDOMETRIUM HASIL PENELITIAN**

Kelompok	Lapang pandang ketebalan endometrium (μm)										Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
KN 1	457,28	462,84	535,61	500,37	465,12	350,75	217,81	340,02	209,94	366,32	390,606
KN 2	579,30	707,44	492,00	713,14	449,98	318,34	269,74	200,74	221,81	209,75	416,224
KN 3	712,50	589,24	640,88	680,21	717,55	222,27	521,21	133,64	282,01	339,72	483,923
KN 4	463,27	622,31	578,99	445,30	539,72	340,64	460,40	380,07	340,60	349,66	452,096
KN 5	433,78	685,37	527,36	484,55	418,21	302,81	216,63	201,96	278,25	233,16	378,208
KN 6	436,55	474,91	378,49	455,29	411,49	213,20	200,93	292,41	321,23	249,78	343,428
KP 1	599,90	347,54	388,33	308,32	317,45	293,35	266,95	276,61	273,59	257,42	332,946
KP 2	350,22	311,00	510,15	273,30	361,32	184,21	160,42	193,00	270,12	211,14	282,488
KP 3	402,12	518,22	224,81	200,16	354,46	239,23	177,41	189,71	210,15	183,44	269,971
KP 4	380,03	307,98	421,00	331,51	493,10	172,84	182,74	221,33	193,60	150,97	285,51
KP 5	344,25	349,53	301,83	321,39	303,22	275,91	229,00	206,94	197,17	254,40	278,364
KP 6	407,57	318,71	315,97	252,84	385,69	202,54	190,57	281,33	210,36	169,76	273,534
P11	445,43	457,49	338,16	348,93	363,54	264,94	337,47	245,07	275,03	260,75	333,681
P12	368,18	372,14	370,70	300,72	479,64	242,29	159,60	212,36	269,76	312,56	308,795
P13	463,13	341,20	326,03	294,63	295,44	310,11	259,10	284,68	287,03	265,57	312,692
P14	725,86	856,37	471,37	598,46	486,05	234,91	445,34	233,75	372,78	253,25	467,814
P15	861,57	771,38	1028,97	869,69	686,88	522,85	611,42	338,58	293,93	527,25	651,252
P16	373,39	225,31	220,65	382,06	248,77	149,92	181,99	240,02	120,59	191,15	223,385
P21	467,08	447,20	483,35	459,24	438,39	401,01	273,73	319,73	184,28	399,92	387,393
P22	675,84	518,57	792,78	511,82	612,29	413,36	241,88	446,03	105,53	219,25	453,735
P23	732,37	687,76	554,97	486,03	500,23	341,97	435,82	413,58	309,53	317,89	478,015
P24	514,21	680,44	398,97	381,79	480,68	341,89	375,76	271,98	287,11	341,45	407,428
P25	407,49	407,81	491,66	546,32	440,23	348,84	244,47	393,95	182,67	361,03	382,447
P26	950,10	626,75	823,79	578,57	531,33	474,28	529,13	264,02	294,86	172,31	524,514
P31	909,97	779,72	670,63	670,80	487,70	439,05	287,00	387,60	327,88	386,88	534,723
P32	684,48	745,20	779,96	472,50	478,47	441,63	445,81	379,27	317,29	350,73	509,534
P33	777,31	833,90	848,52	722,85	657,29	519,43	288,87	443,08	314,34	298,25	570,384
P34	472,33	549,71	569,84	601,77	504,15	347,84	331,09	201,94	344,79	219,33	414,279
P35	411,27	546,46	488,05	428,38	410,52	320,33	396,91	396,57	219,33	268,53	388,635
P36	375,77	291,58	224,74	384,68	352,92	288,91	175,27	257,88	238,87	264,94	285,556



Lampiran 3.

1. Uji Normalitas

ANALISIS DATA HASIL PENELITIAN

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ketebalan Endometrium	.087	30	.200*	.975	30	.693

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

2. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Ketebalan Endometrium

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.820	4	25	.525

3. Uji One Way Anova

Descriptives

Ketebalan Endometrium

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K Neg	6	410.74750	51.167878	20.889199	357.05011	464.4489	343.428	483.923
K Pos	6	287.13400	37.722087	15.399978	247.54710	326.72090	229.610	332.946
P1	6	382.93650	153.304556	62.586323	222.05323	543.81977	223.385	651.252
P2	6	438.92200	56.409598	23.029122	379.72376	498.12024	382.447	524.514
P3	6	450.51850	107.048083	43.702197	338.17843	562.85857	285.556	570.384
Total	30	394.05170	103.912572	18.971753	355.25011	432.85329	223.385	651.252

ANOVA

Ketebalan Endometrium

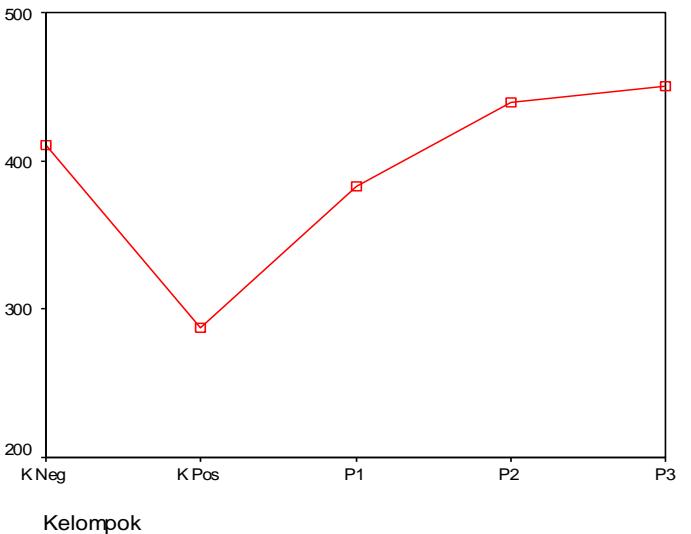
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	102213.2	4	25553.303	3.029	.036
Within Groups	210923.6	25	8436.946		
Total	313136.9	29			

**4. Uji Post Hoc****Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Ketebalan Endometrium
LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95 % Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K Neg	K Pos	123.61350*	53.031267	.028	14.39356	232.83344
	P1	27.81100	53.031267	.605	-81.40894	137.03094
	P2	-28.17450	53.031267	.600	-137.39444	81.04544
	P3	-39.77100	53.031267	.460	-148.99094	69.44894
K Pos	K Neg	-123.61350*	53.031267	.028	-232.83344	-14.39356
	P1	-95.80250	53.031267	.083	-205.02244	13.41744
	P2	-151.78800*	53.031267	.008	-261.00794	-42.56806
	P3	-163.38450*	53.031267	.005	-272.60444	-54.16456
P1	K Neg	-27.81100	53.031267	.605	-137.03094	81.40894
	K Pos	95.80250	53.031267	.083	-13.41744	205.02244
	P2	-55.98550	53.031267	.301	-165.20544	53.23444
	P3	-67.58200	53.031267	.214	-176.80194	41.63794
P2	K Neg	28.17450	53.031267	.600	-81.04544	137.39444
	K Pos	151.78800*	53.031267	.008	42.56806	261.00794
	P1	55.98550	53.031267	.301	-53.23444	165.20544
	P3	-11.59650	53.031267	.829	-120.81644	97.62344
P3	K Neg	39.77100	53.031267	.460	-69.44894	148.99094
	K Pos	163.38450*	53.031267	.005	54.16456	272.60444
	P1	67.58200	53.031267	.214	-41.63794	176.80194
	P2	11.59650	53.031267	.829	-97.62344	120.81644

*. The mean difference is significant at the .05 level.

5. Means Plots



Lampiran 4.

SURAT KETERANGAN KONSULTASI KEPADA AHLI PATOLOGI ANATOMI

KETERANGAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa mahasiswa dengan

Nama : Annisa Istighfari Hernanda R

NIM : 155070601111033

Program Studi: Sarjana Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*)
Terhadap Ketebalan Endometrium Tikus Putih *Wistar* yang Dipapar
Monosodium Glutamat (MSG)

Adalah benar selama proses penggeraan, analisa slide histopatologi dengan
pewarnaan Hematoxyline Eosin (HE) untuk menghitung ketebalan endometrium
telah melakukan konsultasi pada saya di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas
Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Demikian surat ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 14 Mei 2019

Peneliti

Annisa Istighfari Hernanda R

Diketahui

dr. Aina Angelina, Sp.PA

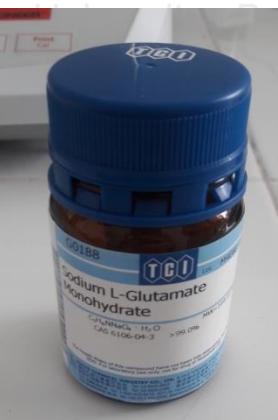


Lampiran 5.

1. Pemeliharaan hewan coba

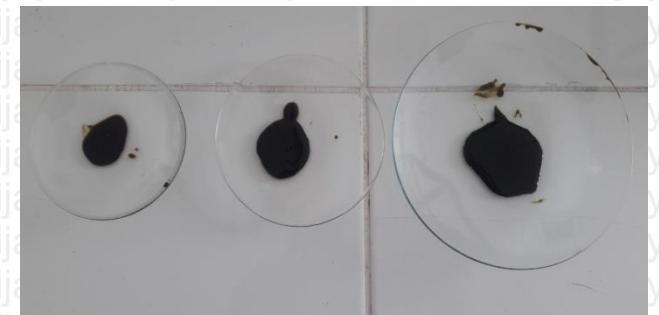


2. Pengenceran Monosodium Glutamat (MSG)





3. Pengenceran ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*)



CURRICULUM VITAE



Nama Lengkap : Annisa Istighfari Hernanda R

Jenis Kelamin : Perempuan

Tempat/Tanggal Lahir : Magetan, 16 Agustus 1996

Jurusan/Angkatan : Kebidanan / 2015

Agama Universitas Brawijaya : Islam

Alamat Asal : Jl. Karya Darma no. 92, Ringinagung, Magetan,

Email : npisa6173@yahoo.com

RIWAYAT PENDIDIKAN

NAMA INSTITUSI	TAHUN
TK Usaha Tama	2001 – 2003
SD Negeri Magetan 2	2003 – 2009
SMP Negeri 1 Magetan	2009 – 2012
SMA Negeri 1 Magetan	2012 – 2015
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya	2015 – sekarang

RIWAYAT PRESTASI

NO.	PRESTASI	TAHUN
1.	Finalis Poster publik dalam Sekolah Ilmiah ARMABI FKUB	2016
2.	Juara 3 Poster publik dalam Scientific Midwifery Exhibition	2016
3.	Finalis Poster publik dalam Scientific Midwifery Exhibition	2017



4.	Finalis Poster publik dalam Andalas Scientific Fair	2018
5.	Gold Medal and Special Award from Thailand in The 10 th International Exhibition of Inventions	2018

HASIL KARYA TULIS ILMIAH

NO.	JUDUL KARYA	TAHUN
1.	<i>Smart Application For Health Monitoring (SPRING) : Aplikasi Sistem Data Terintegrasi untuk Pemantauan Perkembangan Kesehatan yang dapat diakses menggunakan Kartu Rekam Medis Pasien Elektronik (Electronic Medical Record Card atau e-MRC)</i>	2017