



PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BROKOLI (*Brassica oleracea*) TERHADAP JUMLAH SEL EPITEL SEKRETORIK DAN TEBAL LAPISAN OTOT POLOS TUBA FALLOPI TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) STRAIN WISTAR BETINA YANG DIPAPAR MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG)

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh:

Onnitia Dwi Putri Chusyairi

NIM 155070601111021

**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN
JURUSAN KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2019

**HALAMAN PENGESAHAN****TUGAS AKHIR****PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BROKOLI (*Brassica oleracea*)
TERHADAP JUMLAH SEL EPITEL SEKRETORIK DAN TEBAL LAPISAN
OTOT POLOS TUBA FALLOPI TIKUS PUTIH (*Rattus novergicus*) STRAIN
WISTAR BETINA YANG DIPAPAR MONOSODIUM GLUTAMAT (MSG)**

Oleh:

Onnitia Dwi Putri Chusyairi**NIM 155070601111021**

Telah diuji pada

Hari: Senin

Tanggal: 27 Mei 2019

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

Dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA.(K)

NIP. 196910281997022001

Pembimbing-I/Penguji-II

Pembimbing-II/Penguji-III

Dr.dr. Nurdiana, M.Kes

NIP. 195510151986032001

dr. Ni Luh Putu H.M,SpA., M.Biomed

NIK. 2013037502282001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kebidanan

Linda Ratna Wati,SST, M.Kes

NIP. 198409132014042001



PERYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Onnitia Dwi Putri Chusyairi

NIM : 155070601111021

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 sendiri.

Apabila dikemudian 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

Onnitia Dwi Putri Chusyairi

NIM. 155070601111021



KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*) Terhadap Jumlah Sel Epitel Sekretorik dan Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Yang Dipapar *Monosodium Glutamat* (MSG) “.

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh fakta bahwa *Monosodium Glutamat* (MSG) merupakan salah satu timbulnya radikal bebas yang dapat merusak reproduksi manusia. Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mencegah radikal bebas adalah dengan menggunakan bahan alami. Penelitian ini bertujuan membuktikan bahwa ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) sebagai antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Dr.dr. Wisnu Barlianto, M.Si.Med., Sp.PA(K) sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Linda Ratnawati, SST, M.Kes., sebagai ketua Program Studi S1 Kebidanan yang telah membimbing penulis menuntut ilmu di PS S1 Kebidanan di Fakultas Universitas Brawijaya.
3. Dr. dr Nurdiana M.Kes sebagai pembimbing pertama yang senantiasa membimbing, mengarahkan dan memberikan saran untuk dapat menulis dengan baik, serta senantiasa memberikan semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.



4. dr. Ni Luh Putu Herli Mastuti, SpA., M.Biomed sebagai pembimbing kedua yang senantiasa membimbing, mengarahkan dan memberikan saran untuk dapat menulis tugas akhir dengan baik serta senantiasa memberikan semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
5. Dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA(K) sebagai penguji 1 yang telah memberikan banyak masukan dan perbaikan sehingga penulis mampu menyelesaikan Tugas Akhir ini dengan lebih baik lagi.
6. Yang tercinta ayah dan ibu yang tak henti-hentinya memberikan dukungan, doa, motivasi, dan semangat selama menempuh kuliah dan mengerjakan Tugas Akhir.
7. Teman-teman kelompok penelitian bersama Flora, Palupi, Theresia, dan Annisa terimakasih atas dukungan, saran, bantuan dan semangatnya.
8. Sahabat-sahabatku Mahfira, Desi Losari Indah, Nilla Putri Olivia atas doa, dan dukungan semangatnya.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam 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 menerima segala bentuk saran dan kritik yang membangun. Semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 27 Mei 2019

Penulis



ABSTRAK

Chusyairi, Onnitia D.P. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica Oleracea*) Terhadap Jumlah Sel Epitel Sekretorik dan Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Strain Wistar Betina yang Dpapar Monosodium Glutamat (MSG). Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr.dr.Nurdiana, M.Kes (2) dr. Ni Luh Putu Herli Mastuti, SpA., M.Biomed

Gaya hidup masyarakat jaman sekarang cenderung memilih mengonsumsi makanan cepat saji yang banyak mengandung MSG. Kandungan MSG tersebut dapat membahayakan kesehatan, terutama kesehatan organ reproduksi wanita yang dapat menyebabkan terjadinya infertilitas. Tujuan penelitian ini untuk membuktikan adanya pengaruh ekstrak etanol brokoli dalam peningkatan total sel epitel sekretorik dan ketebalan otot polos tuba fallopi yang terpapar MSG. Rancangan penelitian ini yaitu *Randomized Post Test Only* dengan membandingkan variabel yang diteliti antar kelompok perlakuan. Kelompok dibagi menjadi 5 yaitu: K(-) tidak diberi paparan MSG dan ekstrak etanol brokoli; K(+) diberi paparan MSG 0,7 mg/gBB; P1 (MSG 0,7 mg/gBB +500 mg/kgBB ekstrak etanol brokoli); P2 (MSG 0,7 mg/gBB+1000 mg/kgBB ekstrak etanol brokoli); P3 (MSG 0,7 mg/gBB+2000 mg/kgBB ekstrak etanol brokoli). Pemberian perlakuan dilakukan selama 28 hari. Terminasi dilakukan di hari ke 29 saat tikus dalam fase proestrus, selanjutnya dilakukan pengecatan HE untuk mengetahui gambaran histopatologi tuba fallopi tikus dan diamati dengan *Dot Slide Microscopes Olympus BX51*. Analisis data menggunakan uji Normalitas; uji Homogenitas; uji ANOVA *One Way* dan uji *Honestly Significant Difference* (HSD). Uji ANOVA pada rerata sel epitel sekretorik menghasilkan perbedaan yang bermakna ($p= 0,000$ atau $< 0,05$), sedangkan hasil uji HSD membuktikan tidak semua kelompok perlakuan diperoleh perbedaan yang signifikan. Hasil dari uji *One Way ANOVA* pada rerata tebal lapisan otot polos menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Ekstrak etanol brokoli mampu meningkatkan jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi yang dipapar MSG, meskipun tidak diperoleh perbedaan yang signifikan antar kelompok.

Kata kunci: Ekstrak etanol brokoli, MSG, total sel epitel sekretorik, ketebalan otot polos tuba fallopi.



ABSTRACT

Chusyairi, Onnitia D.P. 2019. Effect of Giving Ethanol Extract Broccoli (*Brassica Oleracea*) on The Number of Secretary Epithelial Cells and Smooth Muscle Thickness of Fallopian Tubes Rats (*Rattus Novergicus*) Exposed by Monosodium Glutamate (MSG). Final Assignment, Bachelor of Midwifery Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr.dr. Nurdiana, M.Kes (2) dr. Ni Luh Putu Herli Mastuti, SpA., M.Biomed

People's lifestyle nowadays tend to choose consumed fast food that contained MSG. The MSG content can endanger health, especially the health of female's reproductive organs since it cause infertility. The objective of the study was to prove the effect of broccoli ethanol extract on the increase in total secretary epithelial cells and the thickness of the fallopian tube smooth muscle exposed to MSG. The design of this study is Randomized Post Test Only by comparing the variables studied between treatment groups. The group was divided into 5, namely: K (-) not given MSG exposure and broccoli ethanol extract; K (+) is given exposure to 0.7 mg / gBB MSG; P1 (0.7 mg / gBB + 500 mg / kgBB MSG of broccoli ethanol extract); P2 (0.7 mg / gBB MSG + 1000 mg / kgBB broccoli ethanol extract); P3 (0.7 mg / gBB + 2000 mg / kgBB MSG of broccoli ethanol extract). The treatment was carried out for 28 days. Termination was carried out on the 29th day when the rats were in the proestrus phase, then the HE painting was carried out to determine the histopathology of the rat fallopian tubes and to be observed with Dot Slide Microscopes Olympus BX51. Data analysis using the Normality test; Homogeneity test; One Way ANOVA test and Honestly Significant Difference (HSD) test. One Way ANOVA test on the average number of secretary epithelial cells and the result were significant differences (p -value = 0,000 or $<0,05$), while the HSD test results proved that not all of the treatment groups obtained significant differences. The results of the One Way ANOVA test on the mean smooth muscle thickness showed that there were no significant differences. Broccoli ethanol extract were able to increase the total of secretary epithelial cells and thick fallopian smooth muscle layer exposed to MSG, although no significant differences were obtained between groups.

Keywords: Ethanol extract broccoli, MSG, total of secretary epithelial cells, thickness of the fallopian tube smooth muscle.



DAFTAR ISI

Halaman

| | |
|---|----------|
| Judul | |
| Halaman Pengesahan | ii |
| Kata Pengantar..... | iv |
| Abstrak | vi |
| Abstract | vii |
| Daftar Isi | viii |
| Daftar Tabel..... | xii |
| Daftar Gambar | xiii |
| Daftar Lampiran..... | xvii |
| 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 | 5 |
| 1.4.Manfaat Penelitian..... | 5 |
| 1.4.1.Manfaat Akademik..... | 5 |
| 1.4.2.Manfaat Praktis | 5 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2.1 Monosodium Glutamat..... | 6 |
| 2.2 Metabolisme MSG | 7 |
| 2.3 Reseptor Glutamat | 8 |
| 2.4 Radikal Bebas | 9 |
| 2.5 Monosodium Glutamat (MSG) dan Reactive Oksidative Species (ROS) ... | 12 |
| 2.6 Sistem Reproduksi Wanita..... | 13 |



| | |
|--|-----------|
| 2.6.1 Tuba Fallopi | 13 |
| 2.6.2 Fisiologi Tuba Fallopi | 17 |
| 2.6.3 Peran Tuba Fallopi Terhadap Fertilitas | 19 |
| 2.6.4 Estrogen | 19 |
| 2.7 Antioksidan | 20 |
| 2.7.1 Brokoli (<i>Brassica oleracea L.</i>) | 22 |
| 2.7.1.1 Klasifikasi Brokoli | 23 |
| 2.7.1.2 Kandungan Brokoli | 23 |
| 2.7.1.3 Flavonoid | 24 |
| 2.8 Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>) | 26 |
| 2.8.1 Klasifikasi Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>) | 26 |
| 2.8.2 Reproduksi Tikus Putih (<i>Rattus novergicus</i>) | 26 |
| BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN | 29 |
| 3.1 Kerangka Konsep | 29 |
| 3.2 Hipotesis Penelitian | 31 |
| BAB 4 METODE PENELITIAN | 32 |
| 4.1 Rancangan Penelitian | 32 |
| 4.2 Populasi dan Sampel | 32 |
| 4.3 Variabel Penelitian | 34 |
| 4.3.1 Variabel Independent | 34 |
| 4.3.2 Variabel Dependent | 34 |
| 4.4 Tempat dan Waktu Penelitian | 34 |
| 4.4.1 Tempat Penelitian | 34 |
| 4.4.2 Waktu Penelitian | 34 |
| 4.5 Bahan dan Alat Penelitian | 35 |
| 4.5.1 Bahan | 35 |
| 4.5.2 Alat | 35 |
| 4.6 Definisi Operasional | 37 |
| 4.7 Prosedur Penelitian | 37 |
| 4.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Brokoli | 37 |



| | |
|---|-----------|
| 4.7.2 Pembuatan Dosis Monosodium Glutamat (MSG) | 39 |
| 4.7.3 Aklimatisasi Hewan Coba..... | 40 |
| 4.7.5 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba | 41 |
| 4.7.6 Prosedur Pemberian MSG dan Ekstrak Etanol Brokoli Pada Hewan Coba | 42 |
| 4.7.7 Swab Vagina | 42 |
| 4.7.8 Prosedur Pengambilan Organ Tuba Fallopi | 43 |
| 4.7.9 Proses Pembuatan Preparat Histologi Tuba Fallopi di Lab. Patologi dan Anatomi FK – UB adalah : | 44 |
| 4.7.10 Pengamatan Histopatologi..... | 46 |
| 4.8 Analisis Data..... | 46 |
| 4.8.1 Uji Normalitas | 46 |
| 4.8.2 Uji Homogenitas..... | 47 |
| 4.8.3 Uji <i>One Way ANOVA</i> | 47 |
| 4.8.4 Uji Honestly Significant Difference (HSD)..... | 47 |
| 4.9 Alur Penelitian | 48 |
| BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA | 49 |
| 5.1 Karakteristik Subyek Penelitian..... | 49 |
| 5.2 Perhitungan Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopi Tikus Yang Diberi Ekstrak Etanol Brokoli dan Dipapar MSG | 51 |
| 5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopai Tikus yang Diberi Ekstrak Etanol Brokoli dan Dipapar MSG . | 52 |
| 5.2.2 Uji <i>One Way Anova</i> dan HSD Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopai Tikus Pada Semua Kelompok..... | 52 |
| 5.3 Pengukuran Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi Tikus Yang Diberi Ekstrak Etanol Brokoli dan Dipapar MSG | 57 |
| 5.3.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopai Tikus yang Diberi Ekstrak Etanol Brokoli dan Dipapar MSG . | 58 |
| 5.3.2 Uji <i>One Way Anova</i> Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopai Tikus Pada Semua Kelompok | 58 |
| BAB 6 PEMBAHASAN | 61 |
| 6.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli Terhadap Jumlah Sel Epitel Sekretorik Yang Dipapar MSG..... | 61 |



| | |
|---|----|
| 6.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli Terhadap Tebal Otot Polos Tuba Fallopi Yang Dipapar MSG..... | 64 |
| 6.3 Keterbatasan Penelitian | 68 |
| 6.4 Implikasi Terhadap Kebidanan..... | 68 |
| BAB 7 PENUTUP | 69 |
| 7.1 Kesimpulan..... | 69 |
| 7.2 Saran..... | 69 |
| DAFTAR PUSTAKA | 70 |
| LAMPIRAN | 75 |



DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|--|---------|
| Tabel 2.1 Kandungan Gizi per 100 gram Brokoli Mentah..... | 24 |
| Tabel 5.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Jumlah Sel Epitel Sekretorik..... | 52 |
| Tabel 5.2 Uji One Way Anova Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopi..... | 52 |
| Tabel 5.3 Uji HSD Jumlah Sel Epitel Sekretorik..... | 53 |
| Tabel 5.4 Uji Normalitas dan Homogenitas Tebal Lapisan Otot Polos..... | 58 |
| Tabel 5.5 Uji One Way Anova Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi..... | 58 |



DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 2.1 Pembentukan Radikal Bebas | 10 |
| Gambar 2.2 Dampak Stress Oksidatif pada Sistem Reproduksi Wanita | 11 |
| Gambar 2.3 Histologi tuba fallopi tikus..... | 14 |
| Gambar 2.4 Histologi mukosa tuba fallopi..... | 16 |
| Gambar 2.5 Histologi tuba fallopi pada tikus..... | 17 |
| Gambar 2.6 Mekanisme Regulasi Siklus Hormon Reproduksi Pada Wanita..... | 26 |
| Gambar 2.7 Brokoli..... | 28 |
| Gambar 2.8 Tikus Putih..... | 26 |
| Gambar 2.9 Swab Vagina Pada Tikus..... | 28 |
| Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian..... | 29 |
| Gambar 4.1 Alur penelitian..... | 48 |
| Gambar 5.1 Fase Proestrus tikus..... | 50 |
| Gambar 5.2 Gambaran Histopatologi Jumlah Sel Epitel Sekretorik..... | 51 |
| Gambar 5.3 Histogram Pengaruh Ekstrak Etanol Brokoli Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopi Tikus Putih Yang Dipapar MSG..... | 55 |
| Gambar 5.4 Gambaran Histopatologi Tebal Lapisan Otot Polos..... | 57 |
| Gambar 5.5 Histogram Pengaruh Ekstrak Etanol Brokoli Terhadap Peningkatan Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi Tikus Putih Yang Dipapar MSG | 59 |



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1.Surat Keterangan Laik Etik..... 75

Lampiran 2.Surat Keterangan Konsultasi Pembacaan Slide 76

Lampiran 3.Hasil Pengukuran..... 77

Lampiran 4.Analisis Data 78

Lampiran 5.Dokumentasi 82



DAFTAR SINGKATAN

| | |
|-------------------------------|--|
| AMPA | : <i>α-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-priopionate</i> |
| ATP | : <i>Adenosina Trifosfat</i> |
| CAT | : <i>Catalase</i> |
| DMBA | : <i>7,12-dimetilbenz(a)anthracene</i> |
| DNA | : <i>Deoxyribonucleic Acid</i> |
| FASEB | : <i>Federation of America Society for Experimental Biology</i> |
| FDA | : <i>Food and Drugs Administration</i> |
| FSH | : <i>Follicle Stimulating Hormone</i> |
| GnRH | : <i>Gonadotropin Releasing Hormone</i> |
| GPx | : <i>Glutathione Peroksidase</i> |
| H ₂ O ₂ | : <i>Hydrogen peroksida</i> |
| HE | : <i>Hematoksilin dan Eosin</i> |
| HSD | : <i>Honestly Significant Difference</i> |
| iGluRs | : <i>Ionotropic Glutamate Receptors</i> |
| Ka | : <i>Kainate</i> |
| KN | : <i>Kontrol Negatif</i> |
| KP | : <i>Kontrol Positif</i> |
| LH | : <i>Luteinizing Hormone</i> |
| LO [•] | : <i>Radikal alkoksil</i> |
| LO ₂ [•] | : <i>Radikal peroksil</i> |
| mGluRs | : <i>Metabotropic Glutamate Receptors</i> |
| MSG | : <i>Monosodium Glutamat</i> |
| NaCl | : <i>Sodium klorida</i> |



NADPH : *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Fosfat*

NMDA : *N-methyl-D-aspartate*

NMDAR : *N-methyl-D-aspartate Receptors*

NO : *Nitric oxide*

O₂ : *Singlet oksigen*

O₂⁻ : *Superoksid anion*

OH⁻ : *Hydroxyl*

ONOO⁻ : *Peroxynitrite*

P1 : *Perlakuan 1*

P2 : *Perlakuan 2*

P3 : *Perlakuan 3*

RNS : *Reactive Nitrogen Spesies*

ROS : *Reactive Oxygen Spesies*

SGOT : *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*

SGPT : *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase*

SOD : *Superoxide Dismatuse*

UV : *Ultravioletate*



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Perubahan gaya hidup dikarenakan kesibukan yang meningkat dan dengan kemajuan teknologi informasi yang sangat pesat di lingkungan masyarakat, dapat mempengaruhi pola konsumsi makanan yang cenderung lebih memilih mengkonsumsi makanan cepat saji. Makanan cepat saji mengandung berbagai macam bahan tambahan seperti pengawet, penyedap, dan lain sebagainya. Bahan tambahan makanan yang banyak digunakan di masyarakat adalah senyawa asam glutamat dalam bentuk garam, yaitu Monosodium Glutamat (MSG).

Monosodium glutamat (MSG) adalah salah satu zat aditif makanan yang paling umum digunakan sebagai bahan penyedap makanan untuk menambah rasa gurih pada makanan. Monosodium glutamat (MSG) dikenal dengan berbagai merk seperti ajinomoto, vetsin, micin, sasa, dan sebagainya. Konsumsi MSG di Indonesia sekitar 0,6 gram per hari, sedangkan di Eropa rata-rata 5-12 gram per hari, dan di negara Industri sekitar 0,3-1,0 gram per hari (Geha *et al.*, 2000; Prawirohardjono, 2000; Beyreuther *et al.*, 2006). *Federation of America Society for Experimental Biology (FASEB)* menyebutkan bahwa batasan aman konsumsi dari MSG sebagai bahan pangan adalah sebesar 0,5 - 2,5 gram perhari (*Food and Drug Administration*, 2012). Semakin tinggi dosis MSG yang diberikan pada tikus secara terus menerus dapat mengakibatkan perubahan degeneratif dan atrofi pada ovarium. Perubahan degeneratif dapat menyebabkan kematian sel, yaitu sel apoptosis dan nekrotik (Eweka, 2011).



Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa pemberian MSG 0,7 mg/gBB selama 30 hari pada tikus betina menyebabkan kerusakan struktur histologi ovarium, penurunan jumlah folikel sekunder dan folikel tersier, serta penurunan korpus luteum (Megawati, 2005). Efek MSG juga terlihat pada tuba fallopi tikus betina dewasa strain wistar dengan dosis 0,7 mg/gBB selama 42 hari dapat terjadi penurunan jumlah sel epitel sekretorik dan penipisan lapisan otot polos. Hal ini terjadi karena pemberian MSG yang berlebih dapat mempengaruhi mekanisme kerja hipotalamus, sehingga kadar *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH), *Follicle Stimulating Hormon* (FSH), dan *Luteinizing Hormon* (LH) menjadi turun yang akhirnya berakibat pada sekresi hormon estrogen dan progesteron dalam siklus reproduksi (Umami, 2014). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Camihort (2004), MSG dapat merusak nukleus arkuata di hipotalamus dan dapat menyebabkan penurunan densitas, volume, ukuran serta sekresi kortikotropin, thyrotropin, FSH dan LH (Camihort, 2004).

Berdasarkan penelitian Diniz *et al.* (2005), MSG diketahui dapat meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Hal ini disebabkan karena konsumsi MSG yang berlebihan dapat meningkatkan peroksidasi pada lipid dan penurunan kadar antioksidan yang selanjutnya akan terjadi gangguan metabolik dan stress oksidatif pada jaringan. Stress oksidatif dapat menyebabkan infertilitas melalui berbagai mekanisme, yaitu dengan ketidakseimbangan antioksidan dan radikal bebas, sehingga dapat meningkatkan kerusakan seluler yang disebabkan oleh ROS. Pada sistem reproduksi wanita, ROS berperan penting sebagai mediator terhadap



signaling hormon pada ovarium yang dapat menyebabkan kerusakan langsung pada oosit. *Reactive Oxygen Species* (ROS) di tuba fallopi dapat memberikan dampak yang buruk pada hasil konsepsi, dimana ROS memicu stress oksidatif sehingga terjadi apoptosis sel dan selanjutnya akan terjadi kegagalan implantasi, ancaman kehamilan ektopik, endometriosis, *hydrosalping*, dan polikistik ovarium (Gupta *et al.*, 2008; Legoh *et al.*, 2017).

Tuba fallopi memiliki peran yang besar didalam proses fertilisasi, karena tuba berperan di dalam proses transpor sperma, kapasitas sperma dalam proses fertilisasi, dan transpor embrio (Prawiroharjo, 2014). Tuba fallopi berfungsi untuk menangkap ovum saat terjadi ovulasi, kemudian mengantarkannya untuk bertemu dengan sperma. Hal tersebut dipengaruhi oleh kerja otot polos, jumlah sel epitel bersilia dan epitel sekretorik (Lyons *et al.*, 2006). Apabila terjadi gangguan pada tuba fallopi, maka dapat menyebabkan infertilitas.

Antioksidan sangat diperlukan untuk menetralkan radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan dapat berupa enzim (misalnya Superoksida Dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase), vitamin (misalnya vitamin E, C, A, dan β -karoten), dan senyawa lain (misalnya flavonoid, albumin bilirubin, seruloplasmin, dan lain-lain). Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan lebih besar dari vitamin C dan E (Winarsi, 2007). Dalam sayuran brokoli (*Brassica oleracea*) memiliki kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan yang tinggi. Hal ini ditunjukkan dengan nilai kadar flavonoid total dalam ekstrak brokoli dengan metode maserasi sebesar 43,67 $\mu\text{g/ml}$ dan nilai IC_{50} sebesar 3,63 $\mu\text{g/ml}$ (Lutfita, 2012).



Wardani (2016) menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol brokoli dengan dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, 2000 mg/kgBB per hari selama 7 hari mampu menurunkan kadar *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamic Pyruvic Transaminase* (SGPT) pada tikus yang diberi *7,12-dimetilbenz(α)anthracene* (DMBA).

Dalam penelitian yang dilakukan Setyaningsih (2006) juga membuktikan bahwa pemberian ekstrak brokoli dengan dosis 3,5 mg/gBB per hari selama 15 hari dapat membantu proses perbaikan struktur jaringan baik pada hepar yang diinduksi oleh Pb asetat.

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu diteliti pengaruh ekstrak etanol brokoli terhadap jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi pada tikus yang dipapar MSG.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dapat meningkatkan jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi pada tikus putih (*Rattus novergicus*) strain wistar yang dipapar MSG?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi pada tikus yang dipapar MSG.



1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Membuktikan MSG dapat menurunkan jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi pada tikus.

1.3.2.2. Membuktikan pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dalam meningkatkan jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi pada tikus yang dipapar MSG.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Akademik

1.4.1.1. Menambah ilmu pengetahuan tentang pengaruh ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) terhadap perubahan yang terjadi pada jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi yang terpapar MSG.

1.4.1.2. Menumbuhkan minat mahasiswa kebidanan untuk meneliti lebih dalam tentang pengaruh paparan MSG pada sistem reproduksi.

1.4.2. Manfaat Praktis

1.4.2.1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengaruh MSG terhadap fungsi reproduksi wanita yang berhubungan dengan kesuburan.

1.4.2.2. Memberikan informasi tentang manfaat brokoli (*Brassica oleracea*) sebagai antioksidan pada infertilitas.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Monosodium Glutamat

Monosodium glutamat (MSG) adalah garam natrium dari asam glutamat yang merupakan asam amino non esensial penyusun protein dan banyak digunakan sebagai bahan penyedap makanan untuk meningkatkan rasa lezat. Monosodium glutamat (MSG) pertama kali ditemukan oleh seorang ilmuwan Jepang yang bernama Ikeda pada tahun 1908 yang melalui isolasi rumput laut. Ikeda mengidentifikasi rasa dari hasil isolasi tersebut dengan sebutan *umami*, yang dalam bahasa Jepang artinya lezat. Kemudian, hasil temuan dari Ikeda dipasarkan secara umum oleh *Suzuki Chemical Company* pada tahun 1909 dengan merk dagang Ajinomoto. Di Indonesia MSG dikenal dengan nama vetsin atau micin yang digolongkan kedalam bumbu masak, meskipun sebenarnya MSG digunakan sebagai penguat cita rasa (Sand, 2005).

Asam glutamat adalah salah satu dari asam amino yang paling banyak ditemukan di alam sebagai glutamat bebas maupun terikat dengan asam amino lain. Glutamat bebas memiliki efek meningkatkan rasa sehingga glutamat sering ditambahkan ke dalam makanan, baik sebagai MSG maupun sebagai komponen dari campuran asam amino. Glutamat yang terikat dengan asam amino lain dapat ditemukan dalam berbagai jenis makanan seperti keju, jamur, kacang polong dan tomat (Food Standards Australia New Zealand, 2003). Fungsi utama glutamat dalam metabolisme adalah sebagai *excitatory*



neurotransmitter yaitu berperan penting dalam komunikasi antar sel dan juga dapat mengendalikan GnRH (Iremonger et al., 2010).

2.2 Metabolisme MSG

Metabolisme glutamat terjadi diseluruh tubuh, glutamat diserap oleh usus melalui sistem transport aktif ke mukosa sel lalu diubah menjadi sumber energi. Tubuh manusia mengandung protein 14-17% dan seperlimanya merupakan glutamat yang nantinya di metabolisme tubuh menjadi urea (57%), plasma protein (6%), asam amino bebas (23%) dan 14% disimpan sebagai protein hati. Dalam tubuh manusia, kandungan glutamat tertinggi berada pada otak, yaitu sekitar 10.000-12.000 $\mu\text{mol/L}$, dan di plasma darah sekitar 50-100 $\mu\text{mol/L}$. Hal tersebut disebabkan karena otak dapat memproduksi glutamat dalam jumlah tinggi yang kemudian akan dikeluarkan melalui darah. Jika mengkonsumsi glutamat dengan dosis yang sangat besar (MSG > 5 gr melalui intravena), maka akan terjadi peningkatan konsentrasi plasma glutamat secara signifikan, dan akan kembali normal dalam waktu 2 jam (Food Standards Australia New Zealand, 2003).

Glutamat dapat diberikan pada hewan coba secara oral maupun parenteral. Akan tetapi, pemberian MSG secara oral dan parenteral akan memberikan efek yang berbeda. Pada pemberian secara parenteral, glutamat tidak melalui usus tetapi langsung melalui jalur vena portal dan pembuluh darah perifer. Sedangkan pemberian dengan cara oral, glutamat akan masuk ke usus lalu disirkulasikan melalui ke vena portal menuju hati, kemudian dialirkan ke pembuluh darah perifer. Hati memiliki keterbatasan dalam memetabolisme glutamat, sehingga apabila mengkonsumsi MSG secara berlebihan maka dapat meningkatkan kadar glutamat dalam plasma, yang

nantinya dapat mengakibatkan glutamat menembus melalui *blood brain barrier*. *Blood brain barrier* merupakan pelindung otak dari kadar glutamat yang berlebihan, namun tidak semua bagian otak terlindungi seperti hipotalamus, organ circumventricular, bagian batang otak dan kelenjar pineal, kelenjar yang mengontrol produksi hormon melatonin dan menghentikan pelepasan LH (Macharina, 2001). Jika jumlah glutamat berlebihan di dalam plasma, maka glutamat disirkulasikan ke organ reproduksi dikarenakan hipotalamus dan jaringan perifer memiliki reseptor glutamat (Gill dan Pulido, 2001).

2.3 Reseptor Glutamat

Reseptor glutamat adalah reseptor sinaptik utama yang terletak pada membran sel saraf, yang memiliki peran sebagai *neurotransmitter* untuk komunikasi sel dan juga terdapat pada organ dan jaringan tubuh lainnya. Fungsi reseptor glutamat pada sistem reproduksi yaitu sebagai mediator untuk terjadinya regulasi hormon steroid, pematangan gonad, motilitas sperma dan ovum, ovulasi, konsepsi, motilitas tuba dan miometrium (Gill dan Pulido, 2001). Selain itu, reseptor glutamat juga berperan dalam regulasi hipotalamus yang berhubungan dengan sekresi hormon FSH dan LH pada sistem reproduksi (Durrand *et al.*, 2010). Glutamat memiliki dua jenis reseptor yaitu:

1. *Metabotropic Glutamate Receptors* (mGluRs)

Reseptor mGluRs adalah reseptor glutamat yang teraktivasi oleh G-protein dan berperan sebagai *neurotransmitter excitatory* pada saraf pusat dan juga berperan dalam modulasi Glu yang diinduksi oleh neurotoksisitas dan sebagai pengatur arus Ca^{2+} yang disebabkan oleh aktivitas *N-methyl-D-aspartate* (NMDA). Reseptor mGluRs memiliki 8 sub tipe yang terbagi





menjadi tiga kelompok. Kelompok I yaitu mGluR1 dan mGluR5 berfungsi merangsang inositol fosfat dan menginduksi kalsium intraseluler. Kelompok II yaitu mGluR2 dan mGluR3, serta kelompok III yaitu mGluR4, mGluR6, mGluR7 dan mGluR8 berfungsi menginduksi penurunan pada tingkat intraseluler (Nicoletti *et al.*, 2007).

2. *Ionotropic Glutamate Receptors* (iGluRs)

Reseptor iGluRs merupakan reseptor yang memiliki hubungan langsung terhadap reseptor dari ligan-ligan saluran kation non selektif yang menyebabkan ion K^+ , Na^+ dan Ca^{2+} mengikat glutamat, yang kemudian akan menstimulasi reseptor yang berada dipori sentral membran dari saluran ion tersebut, sehingga dapat menyebabkan respon post sinaptik.

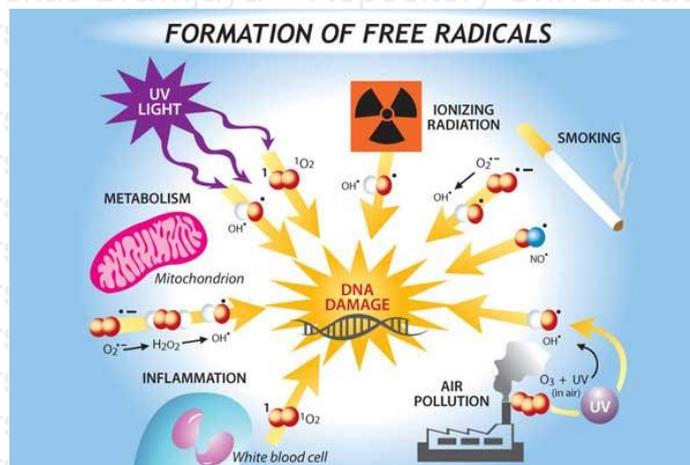
Reseptor iGluRs terbagi menjadi tiga jenis yaitu *N-methyl-D-aspartate* (NMDA), *α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionate* (AMPA) dan *Kainate* (Ka) (Ganong, 2010). *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) diaktivasi oleh reseptor non-NMDA disaat terblokir oleh ion Mg^{2+} sehingga menjadi saluran kation dengan jumlah Ca^{2+} yang banyak (Ganong, 2010). Akan tetapi, aktivitas yang berlebihan pada reseptor iGluRs dapat menyebabkan ion kalsium yang masuk dalam sel saraf menjadi berlebih dan dapat menyebabkan kematian sel saraf (apoptosis) (Dhami *et al.*, 2002).

2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan dan dapat menarik elektron lain, dan terbentuk dari hasil ATP yang diproduksi oleh mitokondria ketika proses metabolisme. Dampak dari struktur molekul tersebut mengakibatkan senyawa menjadi sangat reaktif

dalam mencari pasangan elektron, yaitu dengan mengikat pasangan elektron dan menyerang elektron disekitarnya (Gutteridge, 2000).

Radikal bebas dapat berasal dari dua sumber, yaitu dari dalam tubuh (endogen) dan dari luar tubuh (eksogen). Radikal bebas endogen berasal dari mitokondria, mikrosom, *xanthine oxidase*, oksidase, *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Fosfat* (NADPH), perioksisom dan membran inti sel. Sedangkan radikal bebas eksogen berasal dari sinar UV, asap rokok, radiasi, bahan kimia (Tandon, 2005).



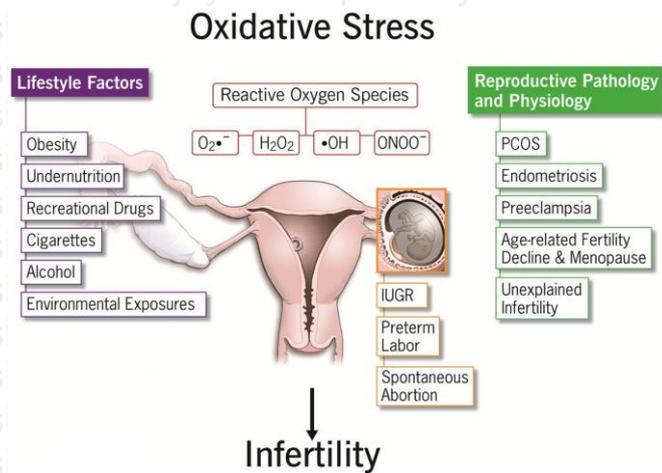
Gambar 2.1 Pembentukan Radikal Bebas

Radikal bebas berasal dari luar tubuh (eksogen) misalnya sinar UV, asap rokok, radiasi, bahan kimia, aktivitas lingkungan dan zat-zat polusi dan dari dalam tubuh sendiri melalui metabolisme di mitokondria (Shinde et al., 2012).

Pelepasan dan pengikatan elektron akibat dari radikal bebas akan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah senyawa peroksidasi dari oksigen yang sangat reaktif, dan berperan dalam proses metabolisme tubuh sebagai signaling hormon, folikulogenesis, pematangan oosit, fungsi tuba, fungsi sel germinal dan perubahan siklus endometrium. *Reactive Oxygen Species* (ROS) terbentuk dari dua jalur, yaitu dari hasil metabolisme seluler dan melalui lingkungan (Tandon, 2005). Menurut Valko *et al.*, (2007),



konsentrasi ROS yang rendah dapat sebagai pertahanan terhadap infeksi, induksi respon mitogenik dan sistem signal seluler. Sedangkan pada konsentrasi yang tinggi, dapat menyebabkan stress oksidatif. Ketidakseimbangan produksi ROS dan antioksidan dapat menginduksi stress oksidatif dan berdampak negatif pada proses reproduksi. Stress oksidatif adalah suatu kondisi yang ditandai dengan ketidakseimbangan antara molekul prooksidan dan antioksidan (Gubory *et al.*, 2010). Stress oksidatif juga dapat menginduksi terjadinya infertilitas, kerusakan oosit, spermatozoa, dan dapat menyebabkan kegagalan implantasi serta kelainan pada janin (Gupta *et al.*, 2008).



Gambar 2.2 Dampak Stress Oksidatif pada Sistem Reproduksi Wanita (Gupta *et al.*, 2008)

Reactive Oxygen Species (ROS) memiliki dua sifat, yaitu bersifat radikal dan non radikal. Bersifat radikal diantaranya yaitu radikal superoksida anion ($O_2^{\bullet-}$), radikal *hydroxyl* (OH^{\bullet}), radikal peroksida (LO_2^{\bullet}), radikal alkoksil (LO^{\bullet}) dan hidroperoksil (HO_2^{\bullet}). Sedangkan yang bersifat non radikal yaitu singlet oksigen (O_2), hydrogen peroksida (H_2O_2), *nitric oxide* (NO) dan *peroxynitrite* ($ONOO^-$). *Hydroxyl* merupakan jenis radikal bebas yang paling berbahaya,



karena hydroxyl dapat merusak asam lemak, protein, DNA, dan membran sel (Tandon, 2005). Menurut Globus *et al.* (2002) peningkatan glutamat dalam tubuh dapat meningkatkan produksi *hydroxyl* pada otak.

2.5 Monosodium Glutamat (MSG) dan Reactive Oksidative Species (ROS)

Glutamat merupakan suatu *neurotransmitter* yang berperan penting untuk komunikasi antar neuron. Glutamat yang berlebih akan dipompa kembali kedalam sel glial di sekitar neuron, dan apabila sel terpapar glutamat berlebihan maka sel tersebut akan mati. Glutamat membuka kanal Ca^{2+} neuron, sehingga dapat masuk kedalam sel. Masuknya Ca^{2+} ke dalam sel mengaktifkan sejumlah enzim, termasuk lipase, protease, endonuclease dan phosphatases yang secara langsung merusak struktur sel atau menginduksi terbentuknya oksidatif radikal bebas sehingga memediasi kematian sel (Arundine dan Tymianski, 2003). Menurut Gill dan Pulido (2001) konsentrasi glutamat yang tinggi dalam tubuh dapat menimbulkan influx Ca^{2+} yang mengakibatkan ion Ca^{2+} masuk ke dalam sel saraf sehingga terjadi *excitotoxicity*, yaitu kematian sel yang disebabkan oleh kelebihan glutamat, kondisi ini akan menyerang seluruh area tubuh yang memiliki reseptor glutamat seperti hipotalamus dan organ reproduksi.

Di dalam susunan saraf pusat, glutamat bereaksi dengan membran reseptor glutamat dan jaringan serta organ lain. Pada jaringan perifer terdapat tempat dengan banyak rangkaian saraf sehingga mampu melakukan rangsangan impuls. Salah satu reseptor glutamat yaitu *N-methyl-D-aspartate Receptors* (NMDAR) 1 merupakan reseptor glutamat yang paling banyak didistribusikan secara luas di jaringan perifer, khususnya pada organ reproduksi yaitu sel epitel tuba fallopi. Apabila aktivasi reseptor ini berlebihan



maka dapat menyebabkan kerusakan sel diluar sistem saraf pusat (Gill dan Pulido, 2001).

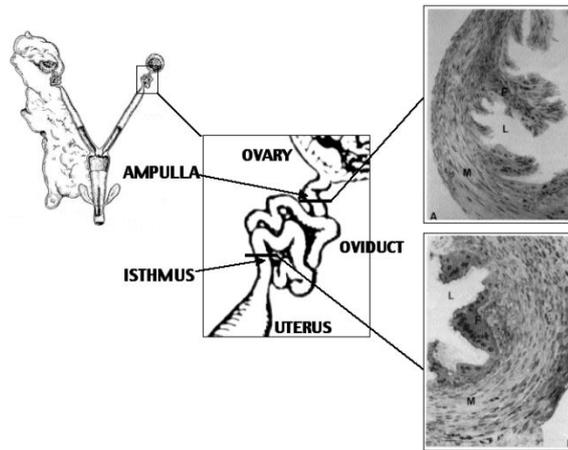
Pada penelitian Seo *et al.* (2010) dihasilkan bahwa tingginya dosis MSG (3gr/kgBB) pada tikus jantan selama 49 hari dapat menyebabkan kerusakan nukleus hipotalamus sehingga mengganggu fungsi *hypothalamus pituitary organ target axis*.

Monosodium glutamat (MSG) menyebabkan terjadinya kerusakan pada nukleus arkuata hipotalamus, yang kemudian dapat mengakibatkan penurunan sekresi GnRH sehingga FSH dan LH menurun. Penurunan sekresi GnRH akan mempengaruhi hormon estrogen pada perkembangan organ seks wanita, proliferasi endometrium dan miometrium di uterus. Hormon estrogen juga mempengaruhi mukosa tuba fallopi yang berfungsi membawa ovum menuju uterus (Camihort *et al.*, 2005).

2.6 Sistem Reproduksi Wanita

2.6.1 Tuba Fallopi

Tuba fallopi memiliki peran penting dalam transportasi gamet dan embrio, yang dimulai pada saat fimbriae menangkap ovum ketika masa ovulasi, kemudian mengantarkan ovum untuk bertemu dengan sperma sampai terjadinya konsepsi serta mengantarkan embrio menuju uterus. Daya penggerak ovum dan embrio ini dipengaruhi oleh otot polos, jumlah epitel bersilia dan epitel sekretorik tuba fallopi (Lyons *et al.*, 2006).



Gambar 2.3 Histologi tuba fallopi tikus. Ampulla (A), Isthmus (B), Muskuler (M), Mukosa (F), dan Lumen (L) (Croxato, 2002).

Tuba fallopi berbentuk seperti tabung, setiap orang memiliki tuba fallopi yang panjangnya sekitar 10 cm dengan diameter yang bervariasi pada setiap bagian tuba, yaitu pars interstitialis 1 mm, pars istmika tuba 2,5 mm, pars ampulla dan pars infundibulum dengan fimbriae masing-masing 6 mm. Dinding tuba fallopi terdiri atas 3 lapisan yaitu mukosa, muskularis, dan serosa. Berikut ini lapisan dari dinding tuba fallopi :

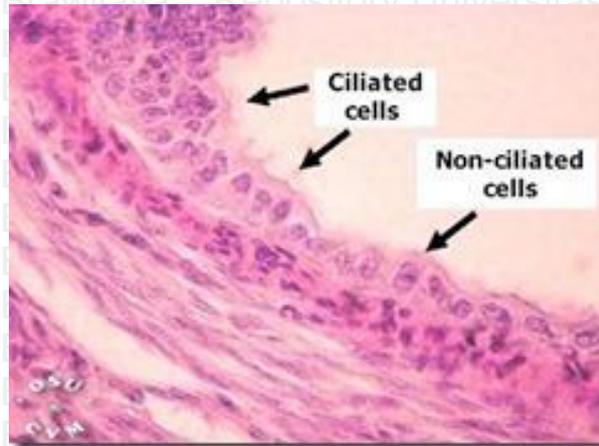
1. Lapisan mukosa

Lapisan mukosa ini terdapat beberapa jenis sel yang berbeda yaitu sel epitel silindris bersilia (25%), sel sekretorik (60%), dan sel peg *narrow* (<10%). Lapisan mukosa ini memiliki banyak lipatan yang disebut *plicae*, paling banyak terdapat dalam ampulla. Pada lapisan mukosa terdapat 2 macam sel epitel yang berbeda. Sel epitel yang pertama yaitu sel yang bersilia aktif bergetar menjelang oosit lewat, sel ini paling banyak terdapat di fimbriae (50%), dan jumlahnya berkurang sepanjang tuba fallopi menuju isthmus (35%). Sel ini berperan untuk kelancaran transport oosit dan embrio ke uterus. Sel epitel yang kedua yaitu sel silindris selapis tanpa silia



(sel epitel sekretorik), sel ini memiliki inti sel yang berbentuk tiang dan terletak kearah basal (Picut dan Parker, 2016). Sel ini berfungsi menghasilkan sekret bersifat nutritif bagi embrio, aktivitas sel epitel ini sejalan dengan aktivitas seluruh saluran reproduksi meskipun tidak seoptimal uterus. Aktivitas sel epitel sekretorik ini berada pada puncaknya pada fase *preovulatory* (Bylander, 2014).

Lamina propria terdiri dari jaringan ikat longgar yang memiliki banyak sel dan serabut retikuler serta serabut otot polos sering tampak di dalamnya. Mukosa memiliki lipatan longitudinal yang berkembang dan bercabang di ampula membentuk struktur seperti labirin. Sub mukosa terdiri atas jaringan ikat longgar berbatasan langsung dengan mukosa, selama fase proestrus awal, sel epitel bersilia mengalami hipertrofi dan terjadi peningkatan aktivitas pada sel epitel sekretorik (Picut dan Parker, 2016). Sel epitel bersilia menunjukkan perubahan pada siklus folikuler, perubahan tersebut yaitu terlihat tingginya silia selama fase folikuler karena kadar estrogen darah tinggi dan menjadi rendah pada fase luteal akhir. Sel sekretorik tuba yang berisi cairan nutritif yang banyak mengandung mukoprotein, elektrolit dan enzim yang diduga berasal dari sekresi aktif dari lapisan epitel dan transduksi selektif darah, cairan tersebut akan meningkat pada saat fase proestrus (El-Mowafi, 2012).



Gambar 2.4 Histologi mukosa tuba fallopi

Pada tuba fallopi terdapat dua sel epitel yaitu sel epitel bersilia dan sel epitel tanpa silia (sel epitel sekretorik) (Picut dan Parker, 2016).

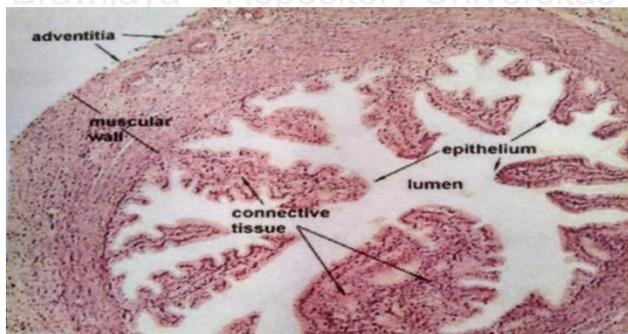
2. Lapisan muskularis

Lapisan muskularis merupakan lapisan otot polos yang mengelilingi mukosa. Paling dominan lapisan lingkaran tengah dan lapisan longitudinal luar, keduanya dibatasi oleh lapisan jaringan ikat yang sangat tipis yaitu otot polos sirkuler interna dan otot polos longitudinal eksterna. Pada bagian tuba menuju uterus, lapisan otot polos ini semakin menebal. Kontraksi otot polos ini akan menghasilkan gerakan peristaltik yang berfungsi untuk membantu perpindahan ovum menuju uterus. Semakin menuju uterus, lapisan otot polos semakin jelas bahkan membentuk dua lapisan yang berbeda susunannya, tunika muskularis dengan gerakan peristaltiknya berfungsi mendorong oosit dan embrio menuju uterus. Gerakan peristaltik ini dipengaruhi oleh tiga sistem intrinsik yaitu hormon estrogen-progesteron, prostaglandin dan sistem adrenergik-non adrenergik. Hormon estrogen dapat merangsang motilitas tuba fallopi sedangkan progesteron menghambat motilitas tuba fallopi (El-Mowafi, 2012).



3. Lapisan serosa

Lapisan serosa merupakan lapisan terluar atau terusan dari selaput peritoneum yang terdiri atas jaringan ikat (Almeida, 2001). Menurut Tirtayasa (2011), lapisan ini merupakan lapisan terluar dari tuba yang berhubungan dengan alat penggantung tuba uterina atau ligamentum *mesosalpinx*. lapisan serosa ini terdiri atas mesothelium dan subserosa.



Gambar 2.5 Histologi tuba fallopi pada tikus

Histologi tuba fallopi berdasarkan HE yang terdiri dari lumen, mukosa, dan lapisan muskular (Cumming, 2001)

2.6.2 Fisiologi Tuba Fallopi

Fungsi tuba fallopi adalah sebagai saluran untuk oosit, sperma dan transportasi ovum yang dibuahi. Fungsi tersebut tergantung pada tiga faktor yaitu cairan tuba, motilitas tuba dan silia tuba (El-Mowafi, 2012).

1. Cairan tuba

Cairan tuba kaya akan elektrolit, enzim dan mukoprotein (glikoprotein). Cairan tersebut banyak pada saat pertengahan siklus, saat embrio dapat berperan penting selama pembuahan dan awal pembelahan. Cairan tuba dibentuk oleh transudasi selektif dari darah dan sekresi aktif dari lapisan epitel. Tingkat akumulasi cairan tuba yaitu 1-3 ml per 24 jam dan produksinya meningkat secara signifikan pada saat ovulasi.

2. Motilitas tuba

Gerak motilitas otot polos pada dinding tuba berfungsi membawa sperma dan ovum untuk dibuahi. Gerakan tersebut dipengaruhi oleh tiga sistem intrinsik yaitu adrenergik-nonadrenergik, estrogen-progesteron, dan prostaglandin. Kadar estrogen yang tinggi akan membuat kontraksi menjadi lebih kuat dan mencapai maksimum saat menjelang ovulasi. Kadar progesteron naik pada 4-6 hari setelah ovulasi, progesteron ini berperan menghambat motilitas tuba. Efek estrogen dan progesteron pada motilitas tuba diperantarai oleh reseptornya. Perubahan pada tingkat reseptor sangat penting dalam menentukan keadaan fungsional tuba fallopi.

3. Silia tuba

Sel silia tuba terdapat banyak pada bagian isthmus menuju ke ampulla tuba, tetapi paling banyak dan menonjol ada pada fimbriae infundibulum. Desiliasi dan siliasi adalah proses yang berkesinambungan selama siklus menstruasi. Siliasi maksimum pada saat preovulatory, terutama yang terdapat dalam fimbriae. Estrogen meningkatkan proses siliasi, sedangkan progesteron menghambat desiliasi. Aktivitas silia berperan dalam mengambil ovum dari ovarium oleh ostium fimbrial dan gerakan melalui ampulla, maupun penyaluran cairan tuba yang mendukung maturasi gamet.

Pemberian MSG secara umum dapat menyebabkan gangguan hormonal yaitu mempengaruhi mekanisme kerja hipotalamus dalam memproduksi GnRH menjadi turun, yang selanjutnya akan mempengaruhi hipofisis anterior dalam mensekresi hormon FSH dan LH, yang berakibat juga pada sekresi hormon estrogen dan progesteron. Sifat dari hormon estrogen ini yaitu untuk merangsang pertumbuhan folikel ovarium dan





meningkatkan motilitas tuba pada otot polos untuk menggerakkan sel epitel tuba fallopi (Muchsin, 2009).

2.6.3 Peran Tuba Fallopi Terhadap Fertilitas

Tuba fallopi memiliki peran yang besar di dalam proses fertilisasi, karena tuba fallopi berperan di dalam proses transpor sperma, kapasitas sperma proses fertilisasi, dan transpor embrio. Peran tersebut dipengaruhi oleh otot polos, jumlah sel epitel bersilia dan sel epitel sekretorik tuba fallopi.

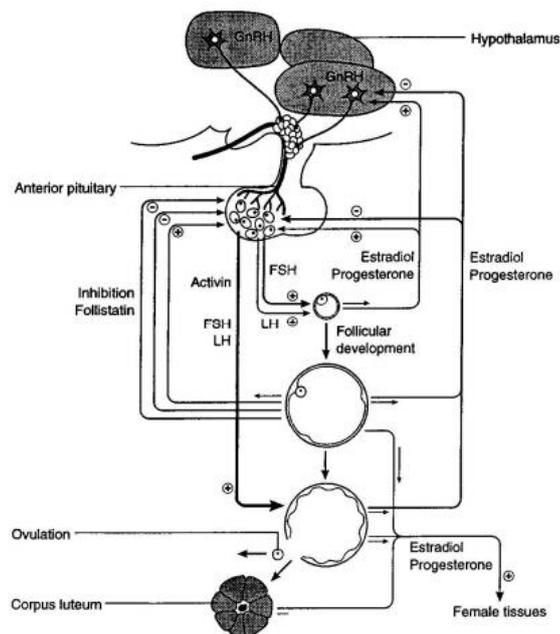
Adanya kerusakan atau kelainan tuba tentu akan berpengaruh terhadap angka fertilitas. Kelainan tuba yang seringkali dijumpai pada penderita infertilitas adalah sumbatan tuba baik pada pangkal, pada bagian tengah tuba, maupun pada ujung distal dari tuba. Berdasarkan bentuk dan ukurannya, tuba yang tersumbat dapat dapat tampil dengan bentuk dan ukuran yang normal, tetapi dapat pula tampil dalam bentuk hidrosalping. Sumbatan tuba dapat disebabkan oleh infeksi atau dapat disebabkan oleh endometriosis. Infeksi klamidia trakomatis memiliki kaitan yang erat dengan terjadinya kerusakan tuba.

2.6.4 Estrogen

Estrogen merupakan salah satu hormon pada wanita yang sangat penting dalam sistem reproduksi. Estrogen adalah hormon steroid yang dihasilkan oleh sel granulosa dari folikel de Graaf pada ovarium. Fungsi utama dari hormon estrogen ini yaitu merangsang pertumbuhan folikel dan meningkatkan motilitas tuba fallopi (Ganong, 2003). Estrogen utama yang disekresi oleh ovarium adalah 17β -estradiol, sedangkan estron dan estriol disekresi dalam jumlah yang sangat kecil. Estrogen dalam darah akan berikatan dengan albumin plasma dan globulin khusus, kemudian ditranspor

ke berbagai jaringan melalui aliran darah. Konsentrasi hormon ini dalam plasma sangatlah kecil. Kecepatan sekresi estradiol yaitu 36 $\mu\text{g/hr}$ pada fase folikuler awal dan meningkat menjadi 250-380 $\mu\text{g/hr}$ pada saat ovulasi (Lawrence, 2003).

Pada sistem reproduksi, estrogen menurunkan sekresi FSH melalui umpan balik negatif. Disisi lain pada sekresi LH, di satu sisi estrogen menghambat LH melalui umpan balik negatif, dan di sisi yang lain estrogen juga meningkatkan sekresi LH melalui mekanisme umpan balik positif (Muchsni, 2009).



Gambar 2.6 Mekanisme regulasi siklus hormon reproduksi pada wanita (Rahmanisa, 2014)

2.7 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang mampu untuk menangkal proses oksidasi dan memperbaiki kerusakan sel. Antioksidan merupakan agen yang dapat membatasi dampak dari reaksi oksidasi dalam tubuh. Peran antioksidan



didalam tubuh yaitu dengan mereduksi radikal bebas dalam tubuh dan mencegah terjadinya pembentukan radikal bebas. Didalam tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah besar, sehingga apabila terbentuk banyak radikal bebas dalam tubuh, maka diperlukan antioksidan eksogen (dari luar tubuh). Ada dua macam antioksidan, yaitu antioksidan enzimatik dan antioksidan non enzimatik.

1. Antioksidan enzimatik atau antioksidan endogen

Antioksidan enzimatik adalah enzim antioksidan yang terdapat didalam tubuh yang dapat menetralsir radikal bebas, akan tetapi apabila kadar radikal bebas terlalu berlebih maka antioksidan enzimatik tidak mampu untuk menetralkan kondisi tersebut, sehingga dibutuhkan antioksidan non enzimatik. Antioksidan enzimatik terdiri dari *Glutathione Peroxidase* (GPx), *Superoksida Dismutase* (SOD), dan *Catalases* (CAT). Dalam menjalankan perannya, enzim tersebut membutuhkan co-faktor seperti selenium, zat besi, tembaga, seng, dan mangan (Huy *et al.*, 2008)

2. Antioksidan non enzimatik atau antioksidan eksogen

Antioksidan non enzimatik bekerja dengan cara mengikat logam yang bertindak sebagai pro-oksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan non enzimatik ini memiliki dua sifat, yang pertama yaitu antioksidan larut dalam lemak, seperti tokofenol, flavonoid, karotenoid, bilirubin, dan quinon. Sifat yang kedua yaitu antioksidan larut dalam air, seperti asam askorbat dan protein pengikat logam (Agarwal *et al.*, 2012). Senyawa-senyawa tersebut berfungsi untuk menangkap senyawa oksidan serta mencegah terjadinya reaksi berantai. Komponen-komponen tersebut tidak kalah penting perannya dalam



menginduksi status antioksidan tubuh, misalnya isoflavon merupakan salah satu komponen dari flavonoid. Antioksidan non enzimatik dapat ditemukan dalam buah-buahan, biji-bijian, sayuran, dan kacang-kacangan (Winarsi, 2007).

Pada kondisi tubuh yang normal, ada keseimbangan antara kedua antioksidan dalam aktivitas dan kadar intraseluler. Keseimbangan ini penting untuk kelangsungan hidup dan kesehatan organisme (Valiko *et al.*, 2007). Jumlah dari radikal bebas dalam tubuh berpengaruh terhadap kerja antioksidan endogen. Apabila jumlah radikal bebas di dalam tubuh sedikit maka kerja antioksidan endogen menjadi ringan, sehingga antioksidan endogen tersebut dipertahankan untuk menurunkan reaksi oksidasi, mencegah, menghambat, menghentikan dan menstabilkan radikal bebas. Kondisi stress oksidatif terjadi karena disebabkan oleh kekurangan antioksidan yang berdampak pada kerusakan jaringan maupun sel (Winarsi, 2007).

2.7.1 Brokoli (*Brassica oleracea L.*)

Brokoli merupakan tanaman sayuran yang masuk ke dalam suku kubis-kubisan (*Brassicaceae*). Bagian tanaman ini yang dapat dimakan yaitu bagian perbungaan yang terdiri dari bunga muda yang telah terdiferensiasi sempurna dan bagian atas batang yang lembut (Herbarium Medanense, 2012).



2.7.1.1 Klasifikasi Brokoli



Gambar 2.7 Brokoli (*Brassica oleracea*) (Dhalimarta, 2005)

Dalam taksonomi tumbuhan brokoli diklasifikasikan sebagai berikut :

- Divisi : Spermatophyta
- Subdivisi : Magnoliophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Ordo : Capparales
- Family : Brassicaceae
- Genus : Brassica
- Spesies : *Brassica oleracea* Var. *Italica* (Dalimarta, 2005)

2.7.1.2 Kandungan Brokoli

Brokoli merupakan sayuran yang kaya akan nutrisi dan mikronutrien diantaranya protein, flavonoid, vitamin (A, B6, C, D, E, K), beta karoten, thiamin, niasin, folat, riboflavin, glutathion dan beberapa mikronutrien lainnya (Lie, 2010). Selain itu, brokoli juga mengandung mineral, seperti kalsium, zat besi, fosfor, sulfur, dan potassium (Bangun, 2012).

Tabel 2.1 Kandungan Gizi per 100 gram Brokoli Mentah

| Kandungan Gizi | Jumlah |
|----------------|---------|
| Energi | 22 kcal |
| Protein | 2,1 g |
| Lemak | 0,1 g |
| Karbohidrat | 4,5 g |
| Kalsium | 52 mg |
| Fosfor | 54 mg |
| Serat | 0,5 g |
| Fe | 0,8 mg |
| Vitamin A | 210 RE |
| Vitamin B1 | 0,09 mg |
| Vitamin B2 | 0,08 mg |
| Vitamin C | 68 mg |
| Niasin | 0,5 mg |

2.7.1.3 Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolik sekunder yang paling banyak ditemukan pada sayuran dan buah-buahan, dan dilaporkan sebagai antioksidan yang berpotensi lebih kuat dibandingkan dengan vitamin C dan E. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6 (Wardani, 2007).

Golongan flavonoid memiliki antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kalkon. Senyawa flavonoid secara *in vitro* telah terbukti merupakan inhibitor yang kuat pada lipid peroksidasi, menangkap senyawa oksigen atau nitrogen (ROS atau RNS), menghambat kerusakan hem protein dan pengikatan ion logam. Kekuatan aktivitas antioksidan dari flavonoid tergantung pada jumlah dan posisi dari gugus OH yang terdapat pada molekul. Semakin banyak substitusi gugus hidroksi pada flavonoid, maka aktivitas antiradikalnya semakin besar (Puspitasari, 2016).

Brokoli (*Brassica oleracea L. Var. Italica*) memiliki kadar flavonoid tinggi dengan aktivitas antioksidan tinggi pula yang ditunjukkan dengan IC_{50} sebesar 8,36 $\mu\text{g/ml}$. Kandungan flavonoid dari brokoli mampu mencegah oksidasi sel, lipid dan DNA oleh radikal bebas, serta mampu menghambat sitokrom P450 dan meningkatkan kadar glutathion. Flavonoid juga memiliki potensi dan selektivitas tinggi untuk menghambat CYP1A1 pada metabolisme fase I pada sitokrom P450. Mekanisme flavonoid dalam menangkal radikal bebas yaitu dengan mendonorkan satu atom hidrogen menjadi molekul yang stabil (Wardani, 2016).

Pada penelitian sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak etanol brokoli dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB dapat meningkatkan kadar SGOT dan SGPT tikus wistar yang di induksi DMBA selama 96 jam, namun pada dosis 250 mg/kgBB tidak mampu memproteksi sel oleh karena DMBA (Wardani, 2016). Selain itu, pemberian ekstrak etanol brokoli dosis 3,5 mg/gBB selama 15 hari dapat memperbaiki struktur jaringan baik pada hepar dan ginjal yang diinduksi Pb asetat. Namun, pada dosis 2,1 mg/gBB dan 2,8 mg/gBB tidak mampu memperbaiki sel yang telah rusak karena zat toksikan dari Pb asetat (Setyaningsih, 2006).



2.8 Tikus Putih (*Rattus novergicus*)

2.8.1 Klasifikasi Tikus Putih (*Rattus novergicus*)



Gambar 2.8 Tikus Putih (*Rattus novergicus*) (Akbar, 2010)

Akbar (2010) menjelaskan klasifikasi tikus putih (*Rattus novergicus*) sebagai berikut :

| | |
|---------|----------------------------|
| Kingdom | : Animalia |
| Filum | : Chordata |
| Kelas | : Mammalia |
| Ordo | : Rodentia |
| Subordo | : Odontoceti |
| Familia | : Muridae |
| Genus | : <i>Rattus</i> |
| Spesies | : <i>Rattus novergicus</i> |

2.8.2 Reproduksi Tikus Putih (*Rattus novergicus*)

Tikus putih (*Rattus novergicus*) merupakan hewan poliestrus yaitu hewan yang memiliki siklus birahi lebih dari dua kali dalam satu tahun. Siklus estrus dipengaruhi dan diatur oleh hormon-hormon khusus dalam tubuh dan berlangsung selama 4-6 hari, siklus pertama muncul setelah 1-2 hari dari mulainya pembukaan vagina yang terjadi pada umur 28-29 hari. Siklus estrus



terbagi atas empat periode yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus (Marcondes, 2002) yang dapat dilihat di gambar 2.9 :

1. Fase proestrus

Pada fase ini terjadi pertumbuhan folikel yang sangat cepat. Fase proestrus berlangsung selama 12 jam dengan ciri banyak terdapat sel epitel yang berbentuk bulat dan berinti serta leukosit sedikit dan terjadi peningkatan estrogen.

2. Fase estrus

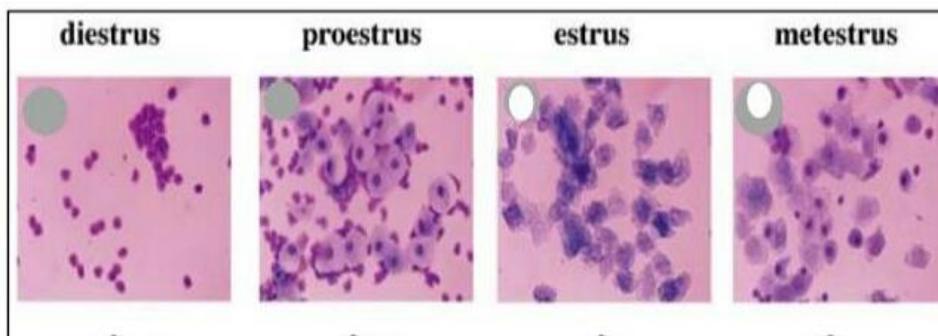
Fase estrus merupakan masa keinginan untuk kawin yang ditandai dengan keluarnya lendir pada vagina, tidak tenang, atau disebut dengan masa ovulasi, leukosit tampak banyak. Pada fase ini estrogen dan *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) memegang peranan yang sangat penting, dan tampak sel cornified anucleate.

3. Fase metestrus

Pada fase ini ditandai dengan berhentinya birahi, corpus luteum terbentuk dan pengeluaran lendir berhenti, hal ini disebabkan karena estrogen mulai menurun dan jumlah sel cornified, leukosit dan sel epitel berinti adalah sama.

4. Fase diestrus

Fase diestrus ditandai oleh corpus luteum menghasilkan progesteron, sel cornified berkurang dan leukosit meningkat.



Gambar 2.9 Swab Vagina pada Tikus

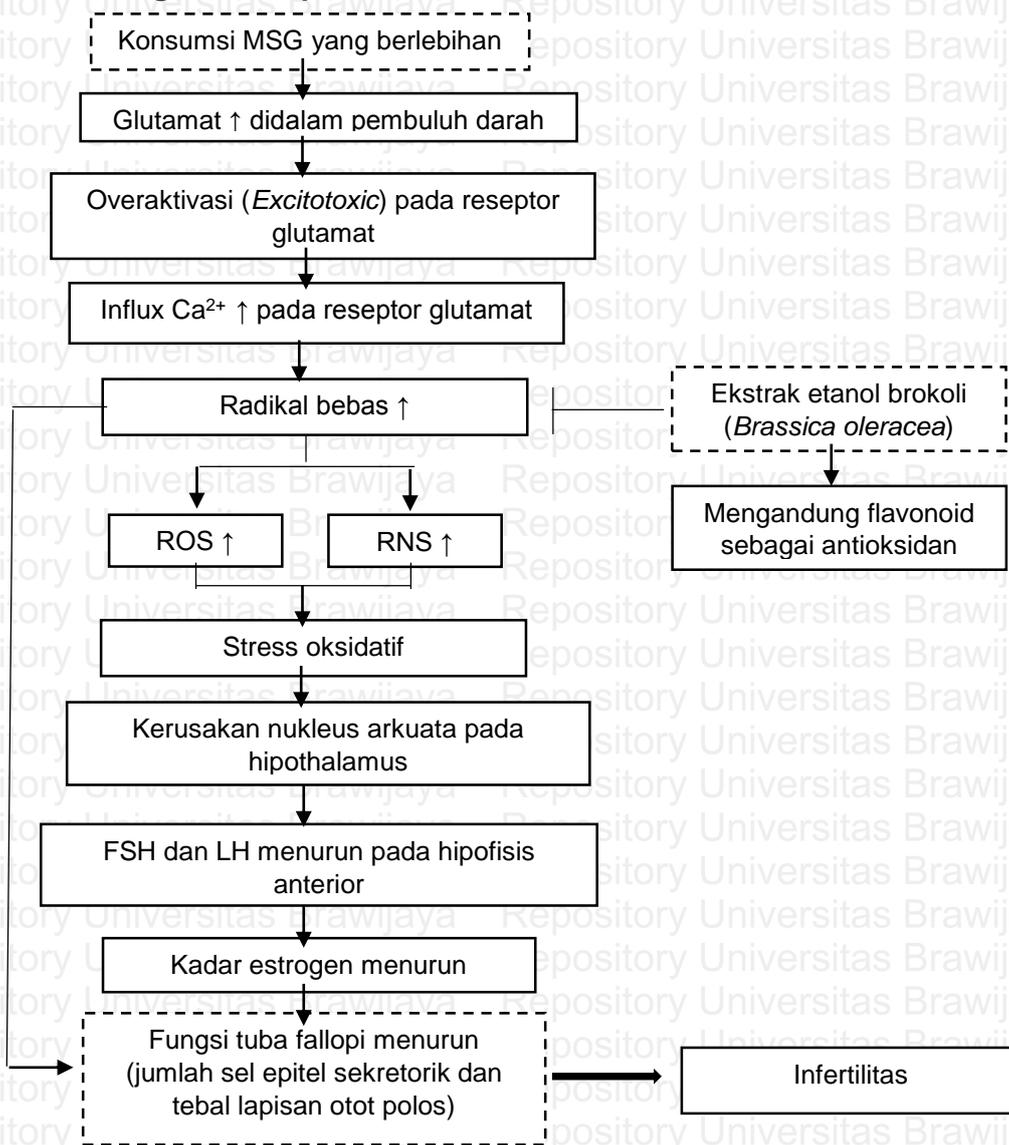
Proestrus (a,b); estrus (c,d); metestrus (e,f); diestrus (g,h) (Eroschenko, 2008)



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan :

- : Mempengaruhi
- : Menyebabkan
- | : Menghambat
- - - - - : Variabel yang diteliti
- RNS : *Reactive Nitrogen Species*
- ROS : *Reactive Oxygen Species*

Deskripsi Kerangka Konsep

Pada kerangka konsep ini menjelaskan bahwa konsumsi MSG yang berlebihan maka akan meningkatkan kadar glutamat dalam darah yang dapat menyebabkan terjadinya radikal bebas. Hal ini disebabkan karena glutamat yang berlebihan pada plasma darah akan merangsang reseptor glutamat untuk overaktivasi yang menyebabkan terbukanya kanal Ca^{2+} ke intraseluler sehingga terjadi *excitotoxicity*. Peningkatan influx Ca^{2+} tersebut dapat menyebabkan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga dapat juga memicu terjadinya stress oksidatif. *Excitotoxicity* adalah proses dimana terjadi kerusakan neurotransmitter dan kerusakan sel-sel yang memiliki reseptor glutamat. Reseptor glutamat tidak hanya terdapat di neuron, namun juga terdapat di bagian otak, seperti hipotalamus dan organ reproduksi (Gill and Pulido, 2001).

Karena adanya reseptor glutamat di hipotalamus yang mengalami exitotoxin, sehingga menyebabkan kerusakan pada nukleus arkuata hipotalamus yang dapat mengakibatkan gangguan pada area *pituitary adrenal axis* sehingga hipofisis anterior tidak dapat mensekresi secara optimal hormon *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH). Penurunan sekresi hormon *Folicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH) dapat menyebabkan folikulogenesis terganggu dan berakibat pada penurunan hormon estrogen (El-Betagy and Elghaweet, 2016). Peningkatan radikal bebas juga akan mempengaruhi anatomi tuba fallopi yaitu penurunan jumlah sel epitel sekretorik dan ketebalan otot polos tuba fallopi secara langsung dan juga mempengaruhi folikel ovarium dalam menghasilkan hormon estrogen. Sifat hormon estrogen merangsang pertumbuhan folikel ovarium dan meningkatkan gerak motilitas pada otot polos untuk menggerakkan sel epitel tuba fallopi (Muchsin, 2009). Fungsi utama tuba fallopi tergantung pada hormon estrogen tersebut. Jika motilitas tuba



falopi menurun karena kadar hormon estrogen yang menurun, maka dapat diasumsikan bahwa aktivitas ovum untuk bertemu dengan sperma saat ovulasi tidak akan terjadi dan akan meningkatkan kejadian infertilitas (Umami, 2014).

Untuk meminimalisasikan dampak kerusakan akibat radikal bebas yang disebabkan oleh glutamat, maka tubuh memerlukan antioksidan sebagai penetral.

Di dalam tubuh terdapat antioksidan endogen yaitu *Glutathione Peroxidase* (GPx), *Superoksida Dismutase* (SOD), dan *Catalases* (CAT) yang bekerja secara sinergis

untuk menghambat terjadinya radikal bebas. Namun, jika radikal bebas di dalam tubuh lebih dominan, maka antioksidan endogen tidak akan mampu menetralsir.

Oleh sebab itu, diperlukan antioksidan dari luar (eksogen) untuk menetralsir radikal bebas (Sayuti & Yesrina, 2015). Antioksidan tersebut salah satunya berasal

dari sayuran brokoli (*Brassica oleracea*) yang memiliki kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan yang tinggi untuk menetralsir radikal bebas. Antioksidan ini

bekerja dengan cara mendonorkan salah satu elektronnya pada senyawa yang bersifat oksidan, sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat

(Lutfita, 2012).

3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*) dapat meningkatkan jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi pada tikus

(*Rattus novergicus*) strain wistar yang dipapar Monosodium Glutamat (MSG).



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara true eksperimental laboratorium dengan menggunakan rancangan penelitian yaitu *Randomized Post Test Only Control Group Design*.

4.2 Populasi dan Sampel

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar betina yang diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya di Malang yang diambil secara random. Tikus putih ini dipilih sebagai sampel penelitian karena mudah dipelihara dan merupakan hewan yang relatif sehat serta cocok untuk digunakan sebagai penelitian eksperimental laboratorik. Sampel penelitian dipilih berdasarkan ketentuan :

Kriteria inklusi :

1. Tikus betina spesies *Rattus novergicus*
2. Usia 2-3 bulan
3. Berat badan 150-200 gram
4. Sehat ditandai dengan tidak cacat, mata yang jernih, dan pergerakan aktif.

Kriteria eksklusi :

1. Tikus sakit atau mati saat randomisasi, selama masa adaptasi dan selama proses penelitian berlangsung

Perhitungan dari jumlah sampel (r) pada setiap perlakuan (t)

berdasarkan rumus Federer yaitu :

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

Dimana pada r merupakan dari jumlah replikasi atau jumlah sampel setiap kelompok dan t merupakan dari jumlah kelompok perlakuan.

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel menjadi:

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

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

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

$$4r-4 \geq 15$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 4,75$$

$$r \geq 5$$

Jadi, sampel yang digunakan setiap kelompok yaitu 5 ekor tikus dan jumlah yang digunakan adalah 5 kelompok sehingga penelitian ini menggunakan 25 tikus. Dalam penelitian eksperimental dapat terjadi *drop out* pada hewan coba sebelum penelitian selesai dilakukan. Sehingga diperlukan perhitungan kembali untuk menambahkan sampel cadangan.

Berdasarkan rumus sampel terkoreksi kemungkinan adanya sampel *drop out* sebanyak 10% (0,1) maka jumlah sampel yang direncanakan menurut rumus yaitu :

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

Keterangan:

N = Besar sampel koreksi





n = Besar sampel awal

f = Perkiraan proporsi *drop out* 10%

Sehingga, perhitungannya menjadi:

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

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

$$N = 5 / 0,9$$

$$N = 6$$

Jadi, sampel yang digunakan tiap kelompok sebanyak 6 ekor. Oleh karena itu, dalam penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus yang terbagi dalam 5 kelompok.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Independent

MSG dan ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*)

4.3.2 Variabel Dependent

1. Jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi
2. Tebal lapisan otot polos tuba fallopi

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

4.4.1 Tempat Penelitian

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

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama kurang lebih 38 hari dimana 7 hari aklimatisasi (adaptasi), 28 hari perlakuan, dan 3 hari untuk estimasi siklus proestrus tikus. Dilaksanakan pada bulan Februari – April 2019.

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Bahan

1. Bahan Pemeliharaan Hewan Coba

Pemberian makanan hewan coba dengan pellet dari pakan ayam BR1 40 gr/hari, dan minuman dengan air mineral 150 ml/ekor, sekam untuk alas.

2. Bahan Pembuatan Ekstrak Etanol Brokoli

Serbuk brokoli (*Brassica oleracea*), Etanol 70%.

3. Bahan Perlakuan Hewan Coba

Bahan yang digunakan dalam perlakuan hewan coba selama penelitian ini adalah MSG murni, ekstrak etanol brokoli (*Brassica oleracea*), dan aquades.

4. Bahan Untuk Swab Vagina

Giemsa, alkohol, NaCl 0,9%.

5. Bahan Untuk Pengambilan Organ Tuba Fallopi

Bahan yang digunakan dalam proses pembedahan hewan coba adalah ketamin 1%. Formalin 10% untuk pengawetan organ tuba fallopi, NaCl 0,9% dan kapas alkohol.

6. Bahan Untuk Pembuatan Slide Histopatologi Tuba Fallopi

Formalin 10%, air kran, sodium klorida (NaCl), Xylol, Parafin cair, Etanol (70%, 80%, 96%), Cat utama *Harris Hematoksilin*, Cat *Eosin* 1%, obyek glass, cover glass, entellan.

4.5.2 Alat

1. Alat untuk pemeliharaan hewan coba

Selama masa pemeliharaan hewan coba akan dipelihara didalam kandang yang berupa box plastik yang berukuran 20x30x40 cm sebanyak



5 buah dan akan diisi 5 ekor tikus disetiap kandangnya. Didalam kandang tersebut akan ditutup dengan kawat kasa, tempat makan dan minum.

2. Alat pembuatan ekstrak brokoli

Baskom, penyaring, pengaduk, pipet, gelas ukur, tabung reaksi, neraca analitik, mesh untuk maserasi brokoli, *overhead stirer* untuk mengaduk simplisia dengan etanol, filter berukuran 0,2-0,4 μ untuk filtrasi sediaan ekstrak, *rotary evaporator* dan *vacum drying* untuk menghilangkan pelarut pada maserasi.

3. Alat untuk pemberian MSG dan ekstrak etanol brokoli pada hewan coba

Gelas beaker, pengaduk, spuit 1 cc, sonde.

4. Alat untuk pewarnaan preparat swab vagina

Cotton bud, *objec glass*, mikroskop.

5. Alat untuk pengambilan organ tuba fallopi

Spuit 2,5 ml, kapas, tempat organ, pinset, scalpet, gunting, papan untuk pembedahan dan tabung pengawetan organ.

6. Alat untuk pembuatan histopatologi tuba fallopi

Mikrotom, *tissue tex prosesor*, oven, autostainer, paraffin embedding station.

7. Alat untuk pemeriksaan jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot

polos tuba fallopi menggunakan *Dot slide mikroskopes olympus BX51*.



4.6 Definisi Operasional

| No | Variabel | Definisi Operasional | Skala Ukur |
|----|---------------------------------------|--|------------|
| 1. | MSG | MSG yang digunakan yaitu MSG murni (<i>L-glutamic acid monosodium salt hydrate</i> 99%, Merck TCI) berbentuk serbuk dengan dosis 0,7 mg/gBB yang diberikan pada tikus secara oral dengan menggunakan sonde selama 28 hari. | Rasio |
| 2. | Ekstrak Brokoli | Etanol Brokoli dalam penelitian ini diperoleh dari pertanian di Batu, dan akan diproses menjadi simplisia dan serbuk di Balai Tanaman Obat Materia Medika, Kota Batu, Malang. Proses ekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% yang dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. | Rasio |
| 3. | Jumlah sel sekretorik fallopi | epitel tuba Jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi pada penampang melintang. Perhitungan dilakukan dengan pemeriksaan Histopatologis pewarnaan <i>Hematoksilin</i> dan <i>Eosin</i> (HE) yang diamati dengan menggunakan software OlyVIA dan mikroskop <i>olympus</i> BX51 dengan pembesaran 400x (sel) dan dihitung pada 5 lapang pandang . | Rasio |
| 4. | Tebal lapisan otot polos tuba fallopi | Ketebalan lapisan otot polos tuba fallopi pada penampang melintang. Pengukuran dilakukan dengan pemeriksaan Histopatologis pewarnaan <i>Hematoksilin</i> dan <i>Eosin</i> (HE) yang diamati dengan menggunakan software OlyVIA dan mikroskop <i>olympus</i> BX51 dengan pembesaran 400x (μm) dan diukur pada 10 titik. | Rasio |

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Brokoli

Simplisia brokoli (*Brassica oleracea*) yang telah menjadi serbuk diperoleh dari Balai Tanamam Obat Materia Medika di Batu. Brokoli yang digunakan sebanyak 1000 gram, yang kemudian dikeringkan dan dihaluskan menjadi bentuk serbuk. Serbuk brokoli yang digunakan sebanyak 100 gram yang kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% selama 24 jam. Serbuk brokoli direndam dengan 900 ml larutan etanol 70% selama 24 jam dan terlindung dari sinar cahaya. Selama perendaman dilakukan pengadukan setiap hari selama 15 menit. Setelah itu dilakukan

penyaringan, hasil dari penyaringan diletakkan dalam cawan petri untuk kemudian diuapkan dengan suhu 37°C sampai didapatkan ekstrak pekat. Dosis brokoli yang digunakan ada 3, yaitu 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB, perhitungan pemberian ekstrak brokoli sebagai berikut:

Dosis untuk tikus dengan berat badan 180 gr:

- Dosis I : 500 mg/kgBB = 0,1 gr/180grBB
- Dosis II : 1000 mg/kgBB = 0,2 gr/180grBB
- Dosis III : 2000 mg/kgBB = 0,4 gr/180grBB

1. Dosis 1 yaitu 0,09 gr/180grBB

- Volume larutan stok untuk 6 tikus selama 7 hari

$$\begin{aligned} \text{Volume stok} &= \text{volume sonde (ml)} \times \text{jumlah tikus} \times \text{lama (hari)} \\ &= 1 \times 6 \times 7 \\ &= 42 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Konsentrasi stok untuk 6 tikus selama 7 hari

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi stok} &= \text{dosis} \times \text{jumlah tikus} \times \text{lama (hari)} \\ &= 0,09 \times 6 \times 7 \\ &= 3,78 \text{ gram} \end{aligned}$$

Jadi, 3,78 gram ekstrak akan dilarutkan dalam 42 ml yang digunakan untuk larutan stok dosis I selama 7 hari dan setiap tikus akan diberikan 1 cc.

2. Dosis 2 yaitu 0,18 gr/180grBB

- Volume larutan stok untuk 6 tikus selama 7 hari

$$\text{Volume stok} = \text{volume sonde (ml)} \times \text{jumlah tikus} \times \text{lama (hari)}$$





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

$$= 42 \text{ ml}$$

- Konsentrasi larutan stok untuk 6 tikus selama 7 hari

$$\text{Konsentrasi stok} = \text{dosis} \times \text{jumlah tikus} \times \text{lama (hari)}$$

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

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

Jadi, 7,56 gram ekstrak akan dilarutkan dalam 42 ml yang digunakan untuk larutan stok dosis II selama 7 hari dan setiap tikus akan diberikan 1 cc.

3. Dosis 3 yaitu 0,36 gr/180grBB

- Volume larutan stok untuk 6 tikus selama 7 hari

$$\text{Volume stok} = \text{volume sonde (ml)} \times \text{jumlah tikus} \times \text{lama (hari)}$$

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

$$= 42 \text{ ml}$$

- Konsentrasi larutan stok untuk 6tikus selama 7hari

$$\text{Konsentrasi stok} = \text{dosis} \times \text{jumlah tikus} \times \text{lama (hari)}$$

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

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

Jadi, 15,12 gram ekstrak akan dilarutkan dalam 42 ml yang digunakan untuk larutan stok dosis III selama 7 hari dan setiap tikus akan diberikan 1 cc.

4.7.2 Pembuatan Dosis Monosodium Glutamat (MSG)

Monosodium glutamat yang digunakan adalah *L-glutamic acid monosodium salt hydrate* 99%, Merck TCI dengan dosis 0,7 mg/gBB.

Dosis yang digunakan mengacu pada penelitian Megawati (2005), yang menyatakan bahwa pada dosis 0,7 mg/gBB dapat mempengaruhi

sistem reproduksi pada tikus putih (*Rattus novergicus*). Kemudian, membuat larutan monosodium glutamat dengan konsentrasi sesuai dosis, yaitu dosis 0,7 mg/gBB, perhitungan pemberian ekstrak brokoli sebagai berikut:

Dosis untuk tikus dengan berat badan 180 gr:

- Dosis I : 0,7 mg/gBB = 0,126 g/tikus
- Volume larutan stok untuk 24 tikus selama 7 hari

$$\begin{aligned} \text{Volume stok} &= \text{volume sonde (ml)} \times \text{jumlah tikus} \times \text{lama (hari)} \\ &= 1 \times 24 \times 7 \\ &= 168 \text{ ml} \end{aligned}$$

- Konsentrasi larutan stok untuk 24 tikus selama 7 hari

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

Jadi, 21,168 gram ekstrak akan dilarutkan dalam 168 ml yang digunakan untuk larutan stok selama 7 hari dan setiap tikus akan diberikan 1 cc.

4.7.3 Aklimatisasi Hewan Coba

Tikus betina dewasa dibiarkan di dalam kandang selama 1 minggu untuk menyesuaikan diri dengan lingkungannya dan diberikan pakan standar berupa pellet, dan air. Kemudian tikus tersebut akan dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Satu kelompok sebagai kontrol negatif, satu kelompok sebagai kontrol positif, dan tiga kelompok sebagai kelompok perlakuan dengan dosis yang berbeda-beda.



4.7.4 Pembagian Kelompok

Dalam penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan yaitu :

1. Kelompok negatif K(-) adalah kelompok tikus yang tidak diberikan MSG dan tidak diberikan ekstrak etanol brokoli selama 28 hari.
2. Kelompok positif K(+) adalah kelompok tikus yang diberikan MSG 0,7 mg/gBB dan tidak diberikan ekstrak etanol brokoli selama 28 hari.
3. Kelompok 3 (P1) adalah kelompok tikus yang diberikan MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak etanol brokoli 500 mg/kgBB selama 28 hari.
4. Kelompok 4 (P2) adalah kelompok tikus yang diberikan MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak etanol brokoli 1000 mg/kgBB selama 28 hari.
5. Kelompok 5 (P3) adalah kelompok tikus yang diberikan MSG 0,7 mg/gBB dan ekstrak etanol brokoli 2000 mg/kgBB selama 28 hari.

4.7.5 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba

Tikus betina dewasa dipelihara di dalam kandang yang berukuran 20x30x40 cm berjumlah 5 buah kandang, yang masing-masing kandang diisi 5 ekor tikus dan dipelihara dalam temperatur ruangan yang konstan. Kandang tersebut diberi sekam padi setebal 0,5 – 1 cm dan diganti setiap pagi (2 hari/kali), sekam ini berguna sebagai alas. Kandang ditutupi dengan kawat kasa atau kawat berjaring, temperatur dan kelembaban ruangan dibiarkan berada pada kisaran alamiah yang baik dengan kebutuhan fisiologis tikus antara 27° – 28° C. Pemberian pakan berbentuk pellet dari pakan ayam BR1 sebanyak 40g/hari dilakukan 1 kali sehari (pagi). Sisa pakan dari pemberian hari sebelumnya tidak dapat digunakan kembali. Pemberian minum dilakukan setiap hari sebanyak 150 ml/ekor.

4.7.6 Prosedur Pemberian MSG dan Ekstrak Etanol Brokoli Pada Hewan Coba

Pemberian larutan MSG dan ekstrak etanol brokoli sesuai dengan metode perlakuan yang telah ditentukan dan akan diberikan selama 28 hari secara per oral dengan menggunakan sonde sampai dengan lambung. Prosedur pemberian MSG dan ekstrak etanol brokoli ini dilakukan setelah proses adaptasi hewan coba

4.7.7 Swab Vagina

Dalam penelitian ini swab vagina dilakukan pada setelah 28 hari perlakuan. Sebelum tikus dianestesi maka dilakukan pemeriksaan apusan vagina untuk mengetahui fase siklus proestrus tikus. Langkah-langkah pemeriksaan apusan vagina sebagai berikut :

1. *Cotton bud* yang telah dibasahi dengan larutan NaCl 0,9% diambil kemudian dimasukkan ke dalam vagina tikus dengan sudut 45^o dan lakukan apusan sebanyak 1-2 kali putaran.
2. Hasil apusan dari *cotton bud* dioleskan pada *objec glass* dan dikeringkan, kemudian dilakukan pewarnaan pada preparat apusan vagina. Setiap pengambilan sampel apusan vagina dibuat sebanyak 2 preparat apusan untuk 1 tikus.
3. Preparat apusan yang sudah dikeringkan dimasukkan ke dalam larutan alkohol absolut untuk difiksasi selama 3 menit, kemudian diangkat dan dicuci dengan air mengalir lalu keringkan.
4. Preparat dimasukkan ke dalam larutan giemsa selama 15 menit, kemudian diangkat dan dibilas dengan air mengalir, lalu dikeringkan dan diamati morfologi sel epitel di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x kemudian dicatat.



Pada penelitian ini, hewan coba yang dilakukan pembedahan adalah tikus yang sedang berada pada fase proestrus yang ditandai dengan banyaknya sel epitel yang memiliki inti, berbentuk bulat, dan sedikitnya leukosit. Apabila ada hewan yang belum memasuki fase proestrus maka akan tetap diberikan perlakuan sambil dilakukan swab vagina setiap hari sampai tikus memasuki fase proestrus. Swab vagina ini dilakukan sebanyak 4 kali.

4.7.8 Prosedur Pengambilan Organ Tuba Fallopi

Pembedahan dilakukan pada hari ke-29 saat fase proestrus dengan langkah-langkah berikut :

- a. Menyiapkan peralatan bedah minor
- b. Tikus betina dianestesi dengan cara injeksi ketamin 1% secara intramuskular, kemudian ditunggu beberapa menit sampai tidak bergerak lagi.
- c. Tikus yang sudah tidak bergerak lagi (mati) diletakkan diatas alas papan dengan perut menghadap ke atas. Tikus ditempatkan pada alas papan dengan menggunakan nahl yang ditancapkan pada keempat telapak kaki. Dinding perut dibuka dengan menggunakan gunting dan pinset secara hati-hati, dengan sayatan pada garis tengah dilanjutkan ke samping kiri dan kanan pada sisi atas dan bawah sampai terlihat tuba fallopi.
- d. Setelah itu tuba fallopi kanan dan kiri diambil dengan hati-hati dengan cara menggunting pada bagian isthmus tuba fallopi kiri dan kanan (yaitu bagian yang paling dekat dengan uterus)
- e. Tuba fallopi dibersihkan dari seluruh ligamen yang melekat. Selanjutnya tuba fallopi dibersihkan dari darah dengan menggunakan (NaCl 0,9%),

tiriskan organ dengan menggunakan kertas saring dengan satu kali tekanan.

- f. Setelah air pada organ mulai mengering, selanjutnya pisahkan tuba fallopi kiri dan kanan. Kemudian masukkan ke dalam botol yang berisi larutan *Fixative buffer* formalin 10% dan direndam selama 12-24 jam untuk mengawetkan sel-sel melalui proses denaturasi protein sehingga struktur sel tidak berubah.
- g. Jaringan siap untuk diproses menjadi preparat di Laboratorium Patologi dan Anatomi FK UB Malang.
- h. Bangkai tikus yang tersisa dan tidak digunakan lagi dikubur oleh petugas laboratorium sesuai dengan prosedur, yaitu dikubur di dalam tanah dengan kedalaman minimal 50 cm dan luas lubang 0,25 m² tanpa dibalut kain, plastik, maupun wadah agar tidak terjadi pencemaran lingkungan. Setiap lubang digunakan untuk mengubur 10 tikus secara bersamaan, hal ini dilakukan agar hewan lain tidak menggali tempat penguburan. Lubang ditutup kembali dengan tanah kemudian dipadatkan agar tidak tercium bau dari bangkai tikus tersebut. Proses penguburan tetap dipantau oleh peneliti.

4.7.9 Proses Pembuatan Preparat Histologi Tuba Fallopi di Lab. Patologi dan Anatomi FK – UB adalah :

1. Proses Pematangan Jaringan Makros

Organ tuba fallopi yang sudah diambil dimasukkan ke dalam larutan formalin 10 % (fiksasi) selama 24 jam. Dalam pematangan ini, yang diambil adalah tuba fallopi yang kondisinya terbaik. Kemudian, jaringan dipotong secara transversa dengan ketebalan \pm 2-3 milimeter. Selanjutnya, dimasukkan ke dalam kaset dan diberi kode, lalu



dimasukkan ke dalam larutan formalin 10%. Kemudian di proses kedalam alat *Tissue Tex Prosesor* selama 90 menit, jika alarm berbunyi maka tandanya selesai.

2. Proses Pengeblokan dan Pemotongan Jaringan

Jaringan diangkat dari alat *Tissue Tex Prosesor*. Kemudian jaringan diblok dengan menggunakan paraffin sesuai kode jaringan, selanjutnya jaringan tersebut dipotong dengan alat microtome dengan ketebalan 3-5 mikron.

3. Proses Deparafinisasi

Setelah jaringan tersebut di potong dengan ketebalan 3-5 mikron, lalu di taruh 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 adalah 3 menit (hidrasi), selanjutnya dimasukkan kedalam air mengalir selama 15 menit.

4. Proses Pewarnaan *Hematoksilin Eosin* (HE)

Dalam pewarnaan jaringan, bahan utama yang digunakan adalah *Harris Hematoksilin* selama 10-15 menit, kemudian cuci dengan air mengalir selama 15 menit, lalu alkohol asam 1 % 2-5 kali celup, yang terakhir dicelupkan kedalam amonia air 3-5 kali celupan. Cat pembanding yang digunakan adalah *Eosin* 1 % selama 10-15 menit.

5. Dehidrasi

Alkohol 70% selama 3 menit, alkohol 80% selama 3 menit, alkohol 96% selama 3 menit, alkohol absolut selama 3 menit.



6. Penjernihan

Xylol selama 60 menit

7. Mounting dengan entelan dan *deckglass*

Biarkan slide kering pada suhu ruangan dan tutup dengan entelan serta *deckglass*. Setelah slide kering, siap untuk diamati.

4.7.10 Pengamatan Histopatologi

Sebelum hasil preparat diamati, terlebih dahulu preparat histologi tuba fallopi dikonsulkan dengan ahli Patologi Anatomi (PA) untuk pembacaan jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos. Preparat histopatologi tuba fallopi ini diamati dengan menggunakan software OlyVIA dan *Dot slide mikroskopes olympus BX51* dengan pembesaran 400x dan dihitung pada 5 lapang pandang dan diukur pada 10 titik.

4.8 Analisis Data

Analisis data dilakukan dalam beberapa tahap menggunakan metode yang berbeda yaitu uji normalitas data sampel dengan Uji *Shapiro Wilk*, Uji Homogenitas dengan Uji *Leuvene's* dan selanjutnya Uji Hipotesa dengan *One Way ANOVA*.

4.8.1 Uji Normalitas

Uji normalitas data digunakan untuk mengetahui sebaran data normal yang menggunakan uji *Shapiro Wilk* dengan melihat nilai probabilitas kesalahan empirik pada *p-value*. Jika nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan data tersebut terdistribusi normal. Apabila data terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji homogenitas.

4.8.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas pada penelitian ini dinilai dengan uji *Leuvene's* dengan melihat nilai probabilitas kesalahan empirik pada *p-value*. Jika $p > 0,05$ maka data tersebut homogen. Jika uji prasyarat (uji normalitas dan homogenitas) terpenuhi, maka dilakukan uji hipotesa dengan parametrik *One Way ANOVA*. Namun, jika uji homogenitas dan uji normalitas tidak terpenuhi, maka menggunakan Uji Kruskal Walls.

4.8.3 Uji *One Way ANOVA*

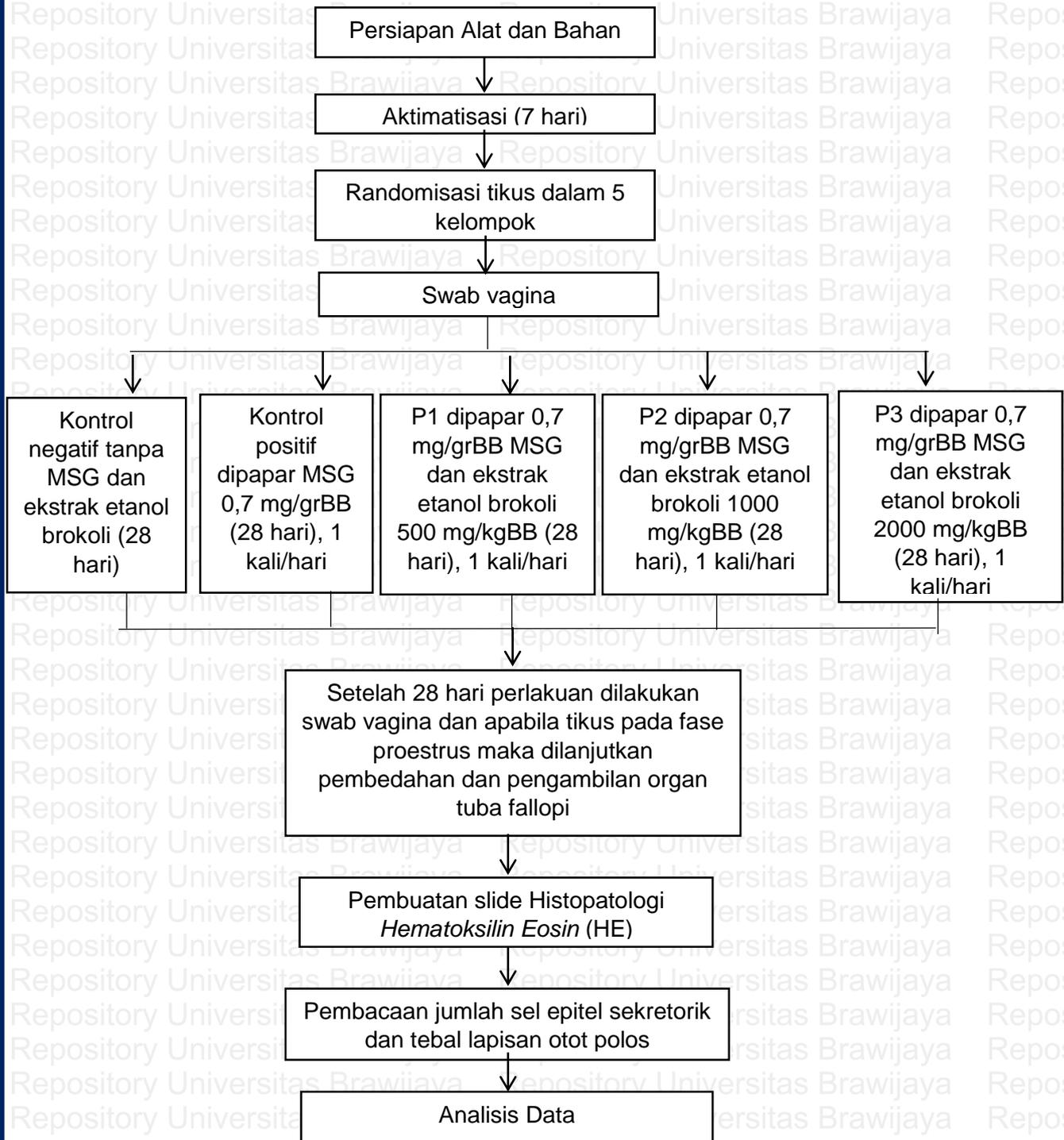
Uji hipotesa pada penelitian ini menggunakan *One Way ANOVA* karena jumlah variabel melebihi 2 variabel. Uji *One Way ANOVA* digunakan untuk mengukur rerata variabel terukur antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Analisa ini dilakukan terhadap data jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi hewan coba dengan tujuan mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi tikus yang dipapar MSG. Uji *One Way ANOVA* memiliki signifikan 0,05 ($p=0,05$) dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$).

4.8.4 Uji *Honestly Significant Difference (HSD)*

Setelah dilakukan uji *One Way ANOVA*, jika didapatkan ada perbedaan yang bermakna, maka selanjutnya dilakukan uji Post Hoc (Tukey HSD). Tujuan uji HSD ini adalah untuk menilai lebih lanjut signifikansi perbedaan rata-rata pada jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi tikus antara perlakuan satu dengan perlakuan yang lain. Uji HSD memiliki signifikan nilai *p-value* $< 0,05$.



4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur penelitian



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Karakteristik Subyek Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium

Parasitologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya pada bulan Februari – April 2019. Pada penelitian ini

menggunakan hewan coba yaitu tikus putih betina jenis *Rattus novergicus*

strain wistar sebanyak 30 ekor tikus yang sesuai dengan kriteria inklusi dan

eksklusi, yang kemudian akan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok

kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3).

Pada penelitian ini, tikus akan dilakukan aklimatisasi selama 7 hari dan

akan diberikan perlakuan selama 28 hari dengan pemberian MSG 0,7 mg/kgBB

dan ekstrak etanol brokoli dengan dosis yang berbeda yaitu 500 mg/kgBB,

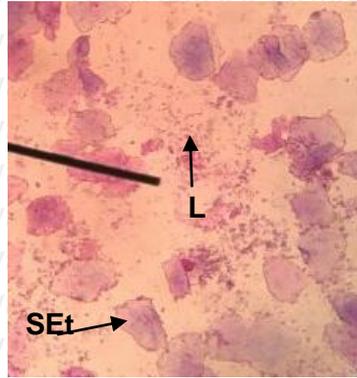
1000 mg/kgBB dan 2000 mg/kgBB . Setelah dilakukan perlakuan, pada hari

ke 29 perlakuan akan dilakukan swab vagina untuk mengetahui fase proestrus

tikus dengan larutan giemsa. Terminasi dilakukan jika tikus dalam fase

proestrus yang ditandai dengan adanya sel epitel berbentuk bulat dan berinti

(gambar 5.1).

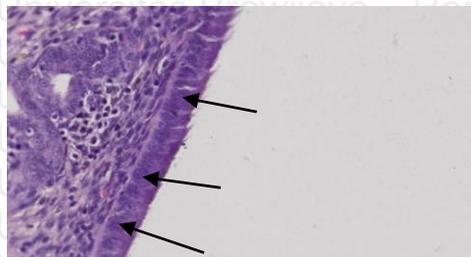


Gambar 5.1 Fase Proestrus tikus

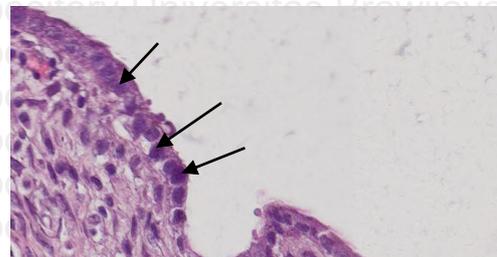
Keterangan: Jumlah sel epitel berinti berkurang dan tergantikan oleh sel epitel bertanduk (Set), Leukosit (L) berkurang. Tanda pada (→) menunjukkan sel epitel bertanduk dan leukosit.

Sedangkan yang tidak dalam fase proestrus, tikus hanya diberikan pakan dan minum, serta dilakukan swab vagina hingga berada pada fase proestrus. Organ tuba fallopi dari 30 tikus akan dipisahkan bagian kanan dan kirinya. Kemudian dibawa ke Laboratorium Patologi Anatomi untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi. Metode pengecatan yang digunakan yaitu Hematoksilin dan Eosin. Hal tersebut dilakukan untuk mengetahui jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi. Kemudian diamati dengan menggunakan software OlyVIA dan *Dot slide mikroskopes olympus BX51* dengan pembesaran 400x dan dihitung pada 5 lapang pandang serta diukur pada 10 titik.

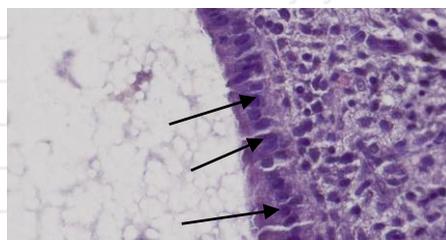
5.2 Perhitungan Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopi Tikus Yang Diberi Ekstrak Etanol Brokoli dan Dipapar MSG



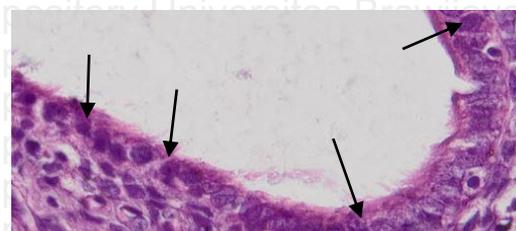
K(-): tanpa paparan MSG dan tanpa pemberian ekstrak etanol brokoli



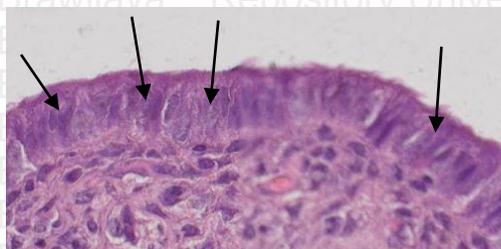
K(+): dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan tanpa pemberian ekstrak etanol brokoli



P1: dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan diberi ekstrak etanol brokoli 500 mg/kgBB



P2: dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan diberi ekstrak etanol brokoli 1000 mg/kgBB



P3: dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan diberi ekstrak etanol brokoli 2000 mg/kgBB

Gambar 5.2 Gambaran Histopatologi Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopi Menggunakan Mikroskop Olympus BX51 Dengan Pembesaran 400x dan Dihitung Pada 5 Lapang Pandang

Keterangan: → : sel epitel sekretorik tuba fallopi

5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopi Tikus yang Diberi Ekstrak Etanol Brokoli dan Dipapar MSG

Tabel 5.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopi

| Variabel | Pengujian asumsi | Koefisien | <i>p-value</i> | Kesimpulan |
|------------------------------|--------------------------------|-----------|----------------|------------|
| Jumlah Sel Epitel Sekretorik | Normalitas <i>Saphiro-Wilk</i> | 0,963 | 0,374 | Normal |
| | Homogenitas <i>Levene</i> | 0,82 | 0,525 | Homogen |

Dari Tabel 5.1 menunjukkan hasil bahwa nilai *p-value* > 0,05 pada uji normalitas dan uji homogenitas. Hal ini berarti bahwa data jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi terdistribusi normal dan homogen. Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas data, maka menunjukkan bahwa data jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi memenuhi syarat untuk dilakukan analisis uji *One Way Anova* untuk mengukur rerata variabel terukur antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

5.2.2 Uji One Way Anova dan HSD Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopi Tikus Pada Semua Kelompok

Tabel 5.2 Uji One Way Anova Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopi

| Kelompok Subyek Pengamatan | Mean ± SD (sel) | <i>p-value</i> |
|-----------------------------------|---------------------------|----------------|
| Kontrol negatif | 50,70 ± 7,81 ^b | 0,000 < α |
| Kontrol positif (MSG 0,7 mg/gBB) | 27,76 ± 3,75 ^a | |
| P1 (MSG+eks.brokoli 500 mg/kgBB) | 45,66 ± 5,81 ^b | |
| P2 (MSG+eks.brokoli 1000 mg/kgBB) | 66,80 ± 4,20 ^c | |
| P3 (MSG+eks.brokoli 2000 mg/kgBB) | 53,47 ± 6,59 ^c | |

Keterangan: Pada rata-rata ± SD jika memuat huruf yang berbeda, berarti ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dan jika memuat huruf yang sama, berarti tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$).

Berdasarkan hasil uji *One Way Anova* pada tabel 5.2 menyatakan bahwa data jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi didapatkan adanya perbedaan yang bermakna rerata jumlah sel epitel sekretorik tikus pada kelima kelompok subyek penelitian. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai *p-*

$value = 0,000 < 0,05$ yang berarti bahwa terdapat pengaruh yang signifikan pada pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap peningkatan rerata jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi. Selanjutnya akan dilakukan uji perbandingan ganda dengan uji *Honestly Significant Difference* (HSD) untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan rata-rata jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi terhadap masing-masing kelompok perlakuan yang tampak pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Uji *Honestly Significant Difference* (HSD) Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopi

| Perbandingan | | <i>p-value</i> |
|-----------------|-----------------|----------------|
| | Kontrol positif | 0,000* |
| Kontrol negatif | P1 | 0,713 |
| | P2 | 0,000* |
| | P3 | 0,004* |
| Kontrol positif | P1 | 0,001* |
| | P2 | 0,000* |
| | P3 | 0,000* |
| P1 | P2 | 0,000* |
| | P3 | 0,000* |
| P2 | P3 | 0,142 |

Keterangan: * : berbeda signifikan ($p < 0,05$)

Berdasarkan tabel 5.3 pada perbandingan kontrol negatif dengan kontrol positif, didapatkan $p\text{-value} < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa pemaparan MSG berdampak pada penurunan jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi tikus secara signifikan. Jika kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok perlakuan P1 (MSG + ekstrak etanol brokoli dosis 500 mg/kgBB), didapatkan nilai $p\text{-value} > 0,05$ yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan P1. Sedangkan jika kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok perlakuan P2 (MSG + ekstrak etanol brokoli dosis 1000 mg/kgBB) dan kelompok perlakuan P3 (MSG + ekstrak etanol brokoli dosis 2000 mg/kgBB),

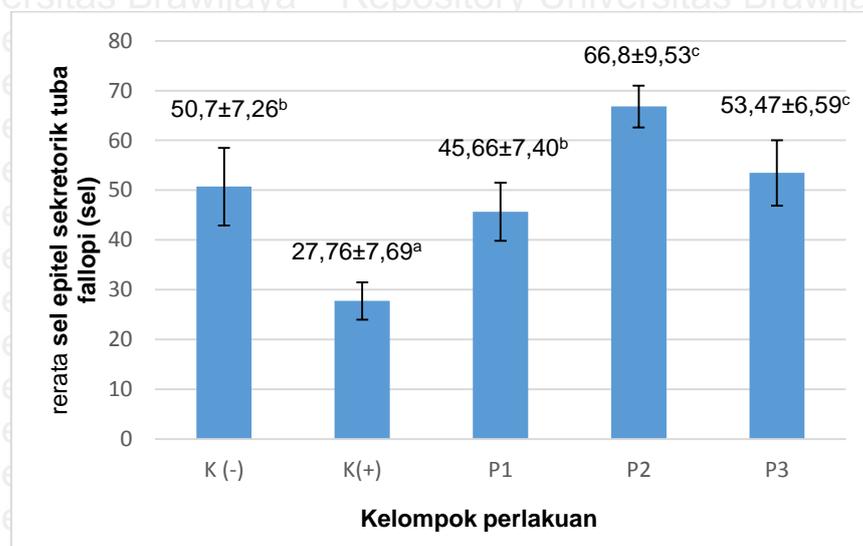
didapatkan nilai p-value < 0,05. Hal ini berarti pemberian ekstrak etanol brokoli pada dosis 1000 mg/kgBB dan 2000 mg/kgBB mampu meningkatkan jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi secara signifikan.

Pada perbandingan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan P1 (MSG + ekstrak etanol brokoli dosis 500 mg/kgBB), kelompok perlakuan P2 (MSG + ekstrak etanol brokoli dosis 1000 mg/kgBB) dan kelompok perlakuan P3 (MSG + ekstrak etanol brokoli dosis 2000 mg/kgBB) didapatkan nilai p-value < 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada rata-rata jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan P1, P2 dan P3. Atau yang berarti pemberian ekstrak etanol brokoli pada dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB dan 2000 mg/kgBB mampu meningkatkan jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi yang dipapar MSG dengan dosis 0,7 mg/gBB secara signifikan.

Perbandingan antara kelompok perlakuan P1 (MSG + ekstrak etanol brokoli dosis 500 mg/kgBB) dengan kelompok perlakuan P2 (MSG + ekstrak etanol brokoli dosis 1000 mg/kgBB) dan P3 (MSG + ekstrak etanol brokoli dosis 2000 mg/kgBB), didapatkan nilai p-value < 0,05. Hal ini berarti terdapat perbedaan yang signifikan pada rerata jumlah sel epitel sekretorik antara kelompok P1 dengan P2 dan P3. Namun, perbandingan antara kelompok perlakuan P2 dengan P3 didapatkan nilai p-value > 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada rerata jumlah sel epitel sekretorik antara kelompok P2 dengan P3. Penentuan perlakuan yang dapat meningkatkan jumlah sel epitel sekretorik paling optimal berdasarkan rerata jumlah sel epitel sekretorik yang tidak berbeda



signifikan dengan kontrol negatif. Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol brokoli dengan perlakuan P2 (1000 mg/kgBB) mampu meningkatkan jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi tikus yang dipapar MSG (0,7 mg/gBB) karena rata-rata jumlah sel epitel sekretorik pada perlakuan P2 lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif. Perbedaan rerata jumlah sel epitel tuba fallopi tampak pada gambar 5.3.



Gambar 5.3 Histogram Pengaruh Ekstrak Etanol Brokoli Terhadap Peningkatan Jumlah Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopi Tikus Putih Yang Dipapar MSG

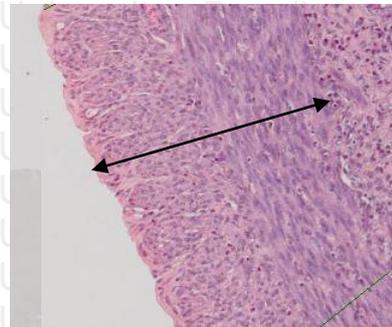
Keterangan : K (-): tanpa paparan MSG dan tanpa pemberian ekstrak etanol brokoli; K (+): dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan tanpa pemberian ekstrak etanol brokoli; P1 : dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan diberi ekstrak etanol brokoli 500 mg/kgBB; P2: dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan diberi ekstrak etanol brokoli 1000 mg/kgBB; P3: dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan diberi ekstrak etanol brokoli 2000 mg/kgBB

Berdasarkan histogram diatas menunjukkan bahwa rerata jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi pada kelompok kontrol positif memiliki nilai rerata jumlah sel epitel sekretorik dengan nilai yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa paparan MSG dosis 0,7 mg/gBB berdampak pada penurunan jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi. Kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) memiliki nilai rerata jumlah sel epitel sekretorik dengan nilai yang lebih besar dibandingkan

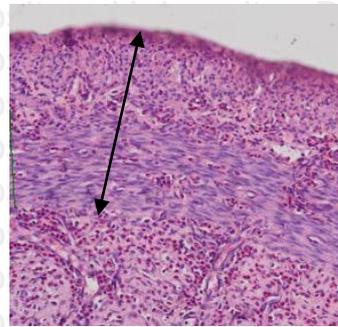


dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol brokoli dapat meningkatkan jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi. Kelompok perlakuan P2 memberikan efek yang paling baik dalam meningkatkan jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi.

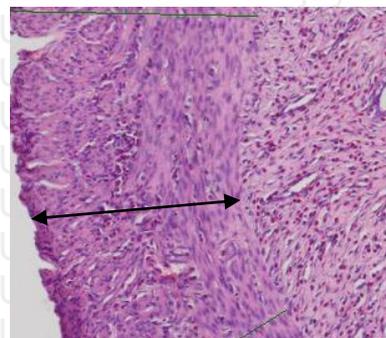
5.3 Pengukuran Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi Tikus Yang Diberi Ekstrak Etanol Brokoli dan Dipapar MSG



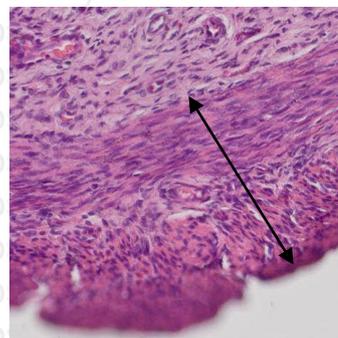
K(-): tanpa paparan MSG dan tanpa pemberian ekstrak etanol brokoli



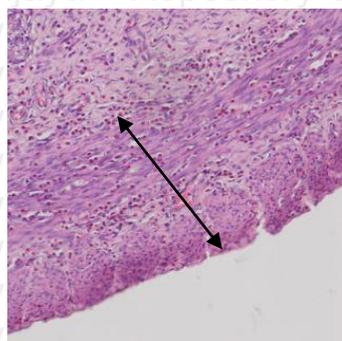
K(+): dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan tanpa pemberian ekstrak etanol



P1: dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan diberi ekstrak etanol brokoli 500



P2: dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan diberi ekstrak etanol brokoli 1000



P3: dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan diberi ekstrak etanol brokoli 2000 mg/kgBB

Gambar 5.4 Gambaran Histopatologi Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi Menggunakan Mikroskop Olympus BX51 Dengan Pembesaran 400x Diukur pada 10 titik

Keterangan :  : ketebalan lapisan otot polos tuba fallopi

5.3.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi Tikus yang Diberi Ekstrak Etanol Brokoli dan Dipapar MSG

Tabel 5.4 Uji Normalitas dan Homogenitas Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi

| Variabel | Pengujian asumsi | Koefisien | p-value | Kesimpulan |
|--------------------------|-----------------------------------|-----------|---------|------------|
| Tebal Lapisan Otot Polos | Normalitas <i>Saphiro-Wilk</i> | 0,988 | 0,973 | Normal |
| | Homogenitas <i>Levene</i> | 1,791 | 0,162 | Homogen |

Dari Tabel 5.4 menunjukkan hasil bahwa nilai $p\text{-value} > 0,05$ pada uji normalitas dan uji homogenitas. Hal ini berarti bahwa data tebal lapisan otot polos tuba fallopi terdistribusi normal dan homogen. Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas data, maka menunjukkan bahwa data tebal lapisan otot polos tuba fallopi memenuhi syarat untuk dilakukan analisis uji *One Way Anova* untuk mengukur rerata variabel terukur antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

5.3.2 Uji *One Way Anova* Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi Tikus Pada Semua Kelompok

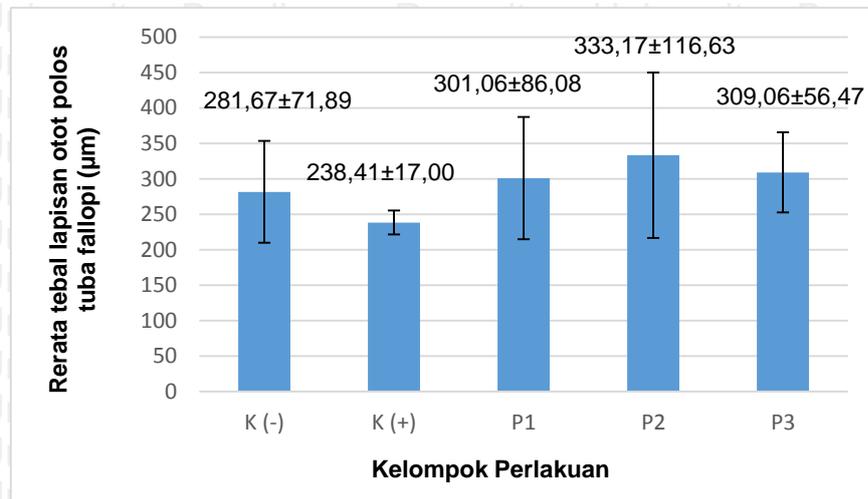
Tabel 5.5 Uji *One Way Anova* Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi

| Kelompok Subyek Pengamatan | Mean \pm SD (μm) | p-value |
|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------|
| Kontrol negatif | 281,67 \pm 71,89 | 0,306 $<$ α |
| Kontrol positif (MSG 0,7 mg/gBB) | 238,41 \pm 17,00 | |
| P1 (MSG+eks.brokoli 500 mg/kgBB) | 301,06 \pm 86,08 | |
| P2 (MSG+eks.brokoli 1000 mg/kgBB) | 333,17 \pm 116,63 | |
| P3 (MSG+eks.brokoli 2000 mg/kgBB) | 309,06 \pm 56,47 | |

Berdasarkan hasil uji *One Way Anova* menyatakan bahwa data tebal lapisan otot polos tuba fallopi didapatkan tidak ada perbedaan yang bermakna rerata tebal lapisan otot polos tikus pada kelima kelompok subyek penelitian. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai $p\text{-value} = 0,306 < 0,05$ yang berarti bahwa tidak ada pengaruh yang signifikan pada pemberian ekstrak

etanol brokoli terhadap peningkatan tebal lapisan otot polos tuba fallopi.

Perbedaan rerata tebal lapisan otot polos tampak pada gambar 5.5.



Gambar 5.5 Histogram Pengaruh Ekstrak Etanol Brokoli Terhadap Peningkatan Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi Tikus Putih Yang Dipapar MSG

Keterangan: K(-): tanpa paparan MSG dan tanpa pemberian ekstrak etanol brokoli; K(+): dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan tanpa pemberian ekstrak etanol brokoli; P1: dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan diberi ekstrak etanol brokoli 500 mg/kgBB; P2: dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan diberi ekstrak etanol brokoli 1000 mg/kgBB; P3: dipapar MSG 0,7 mg/gBB dan diberi ekstrak etanol brokoli 2000 mg/kgBB

Berdasarkan histogram diatas menunjukkan bahwa rerata ketebalan lapisan otot polos tuba fallopi pada kelompok kontrol positif memiliki nilai rerata ketebalan lapisan otot polos dengan nilai yang paling kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemaparan MSG dosis 0,7 mg/gBB berdampak pada penurunan ketebalan lapisan otot polos tuba fallopi, namun tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif. Kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) memiliki nilai rerata ketebalan lapisan otot polos tuba fallopi dengan nilai yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian



ekstrak etanol brokoli dapat meningkatkan ketebalan lapisan otot polos tuba fallopi, namun tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif.



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli Terhadap Jumlah Sel Epitel Sekretorik Yang Dipapar MSG

Berdasarkan hasil gambar 5.3, pada kelompok kontrol positif yaitu tikus yang dipapar MSG tanpa pemberian ekstrak etanol brokoli memiliki rerata jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi yang paling rendah. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian MSG dengan dosis 0,7 mg/gBB selama 28 hari dapat menurunkan jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi tikus.

Sel epitel tuba fallopi terdiri dari dua jenis sel yaitu sel epitel sekretorik dan sel epitel bersilia. Sel epitel sekretorik yaitu sel tanpa silia yang banyak mensekresi cairan yang mengandung karbohidrat (galaktosa), elektrolit dan enzim yang diperkirakan berasal dari transudasi selektif darah dan sekresi aktif dari lapisan epitel yang bersifat nutritif untuk sperma, embrio dan melubrikasi jalan embrio menuju uterus selama berada di tuba fallopi. Selain itu, sel epitel sekretorik juga dapat memberikan kapasitas sperma yang berkaitan dengan sel silia tuba untuk bergerak hiperaktif dan memberikan waktu yang lebih cepat untuk reaksi akrosom (Croxatto, 2012). Sel epitel sekretorik berada dalam puncaknya pada fase preovulasi dan melepaskan sekret atau cairan ke lumen, selanjutnya puncaknya berkurang dan ukuran lebih rendah dari sel epitel bersilia. Perubahan yang terjadi membuat sel bersilia untuk mengangkut oosit dan sperma (Bylander, 2014).

Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Farombi dan Oeyema (2006), menyatakan bahwa pemberian MSG dengan dosis 0,6 mg/gBB selama 10 hari dapat menimbulkan stress oksidatif sehingga menyebabkan ROS dan

peningkatan kadar MDA pada otak, ginjal dan hati. Tingginya kadar glutamat dalam plasma menyebabkan overaktivasi reseptor glutamat ionotropik (iGluRs) di neuron sehingga kalsium berlebihan di dalam mitokondria yang menyebabkan disfungsi mitokondria, kegagalan energi dan pembentukan ROS yang berlebihan. Akumulasi kadar kalsium intraseluler yang tinggi memicu aktivasi beberapa enzim dan produksi ROS yang berlebihan sehingga terjadi kerusakan di otak (Gill dan Pulido, 2001; Rueda *et al.*, 2016).

Sukmaningsih, *dkk* (2011) telah melakukan penelitian pada mencit jantan yang berusia 12 minggu dengan memberikan MSG dosis maksimal 4,5 mg/BB secara oral selama 35 hari dan didapatkan hasil bahwa jumlah spermatid mengalami penurunan secara bermakna. Sabri (2006) memberikan MSG secara oral sebanyak 0,1 ml/10 gBB pada induk mencit sejak umur kehamilan 0-16 hari, diketahui bahwa induk mencit tersebut mengalami embriotoksik dan teratogenik. Eweka, *et al.* (2010) melakukan penelitian pada tikus betina dewasa yang diberi MSG 0,04 mg/kgBB dan 0,08 mg/kgBB yang dihubungkan dengan histologi tuba fallopi dan infertilitas, setelah perlakuan 40 hari ternyata terjadi hipertrofi sel epitel, lisis pembuluh darah pada lapisan muskuler tuba fallopi, hal ini dikarenakan MSG direspon sebagai suatu toksik oleh tubuh yang menyebabkan terjadinya lisis dan nekrotik pada sel epitel tuba.

Pada penelitian ini, pada kelompok perlakuan yang mendapatkan MSG dan ekstrak etanol brokoli berbagai dosis (P1, P2 dan P3) mengalami peningkatan jumlah sel epitel sekretorik walaupun tidak berbeda secara signifikan antar kelompok. Jika kadar glutamat pada tubuh berlebih maka kinerja hipotalamus dalam signaling hormon akan terganggu. Sel epitel



sekretorik berperan secara optimal saat ovulasi untuk memungkinkan terjadinya konsepsi yang sangat bergantung pada kadar estrogen. Estrogen akan disekresi dengan baik jika umpan balik terhadap hipotalamus tidak terganggu oleh ROS. Lyons, *et al.*, (2006) menyatakan bahwa sel epitel tergantung pada kadar estrogen, akan meningkat menjelang praovulasi, pada saat itulah ukuran sel epitel bersilia dan sekretorik dalam ukuran yang sama. Hal itu sejalan dengan penelitian Tay, *et al.*, (1997) yang menyatakan bahwa berkurangnya jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi akan menyebabkan radang panggul yang dihubungkan dengan kejadian infertilitas pada wanita, maka dari itu dengan memberikan antioksidan dari ekstrak etanol brokoli diharapkan mampu untuk mengurangi radikal bebas yang disebabkan oleh glutamat.

Brokoli (*Brassica oleracea L. Var. Italica*) mengandung bahan alami yang baik seperti glukosinolat, senyawa fenolik, serat dan senyawa antioksidan seperti vitamin C dan E serta mineral (Moreno, *et al.*, 2006). Bila dibandingkan dengan sayuran lainnya, pada brokoli memiliki kandungan vitamin C dan serat yang lebih tinggi yaitu sebesar 89,2 mg dan 2,6 mg (*Unites States Department of Agriculture*, 2012).

Brokoli (*Brassica oleracea L. Var. Italica*) memiliki kadar flavonoid tinggi dengan aktivitas antioksidan tinggi pula yang ditunjukkan dengan IC_{50} sebesar 8,36 $\mu\text{g/ml}$. Kandungan flavonoid dari brokoli mampu mencegah oksidasi sel, lipid dan DNA oleh radikal bebas, serta mampu menghambat sitokrom P450 dan meningkatkan kadar glutation. Flavonoid juga memiliki potensi dan selektivitas tinggi untuk menghambat CYP1A1 pada metabolisme fase I pada sitokrom P450. Mekanisme flavonoid dalam menangkal radikal bebas yaitu



dengan mendonorkan satu atom hidrogen menjadi molekul yang stabil (Wardani, 2016).

Hal ini sesuai dengan penelitian Wardani (2016), bahwa ekstrak etanol brokoli dosis 500 mg/kgBB, 1000 mg/kgBB, dan 2000 mg/kgBB mampu menurunkan kadar SGOT dan SGPT tikus wistar yang dipapar DMBA 15 mg/kgBB selama 96 jam, sehingga mendekati kadar SGOT dan SGPT pada kelompok kontrol negatif. Penelitian Setyaningsih (2006) juga mendukung bahwa ekstrak etanol brokoli dengan dosis 3,5 mg/gBB/hari selama 15 hari dapat membantu proses perbaikan struktur jaringan baik pada hepar yaitu: hepatosit, maupun ginjal yaitu glomerulus dan sel epitel tubulus proksimal menciit. Vania (2019) juga menyatakan dalam penelitiannya bahwa pemberian ekstrak etanol brokoli dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB dapat berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan derajat sel busa pada gambaran histopatologi aorta tikus wistar hiperlipidemia.

6.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli Terhadap Tebal Otot Polos Tuba Fallopi Yang Dipapar MSG

Berdasarkan hasil gambar 5.5, pada kelompok kontrol positif yaitu tikus yang dipapar MSG tanpa pemberian ekstrak etanol brokoli memiliki rerata ketebalan lapisan otot polos tuba fallopi yang paling rendah. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian MSG dengan dosis 0,7 mg/gBB selama 30 hari dapat menurunkan ketebalan lapisan otot polos tuba fallopi tikus.

Lapisan muskularis tuba fallopi terdiri dari dua lapisan otot polos yaitu lapisan sirkuler bagian dalam dan lapisan longitudinal bagian luar, diantara keduanya terdapat jaringan ikat interstisial yang banyak mengandung arteriola dan venula. Lapisan otot polos semakin menebal pada tuba bagian isthmus, kontraksi otot polos akan menghasilkan gerakan peristaltik yang berfungsi

untuk membantu perpindahan ovum menuju rahim, pada bibir infundibulum atau fimbrae otot polos hampir tidak tampak atau hanya soliter karena pada bagian ini banyak terdapat sel epitel. Semakin menuju ke uterus lapisan otot polos semakin jelas, bahkan membentuk dua lapis yang berbeda susunannya. Gerakan peristaltik ini dipengaruhi oleh tiga sistem intrinsik yaitu hormon estrogen-progesteron, hormon prostaglandin dan sistem adrenergik. Hormon estrogen dapat merangsang motilitas tuba dan sebaliknya progesteron menghambat gerakan peristaltik tersebut. Sedangkan peran dari hormon prostaglandin adalah meregulasi motilitas tuba secara spontan. Selama fase pro-estrus, tuba fallopi sangat peka terhadap senyawa α -adrenergik seperti norepineprin dimana senyawa ini bersifat mengaktivasi estrogen sehingga dapat terjadi pembuahan dengan baik.

Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Croxato, *et al.*, (2002) yang menyatakan bahwa sel epitel bersilia, sel epitel sekretorik dan lapisan otot polos merupakan efektor mekanik transportasi tuba fallopi. Pada otot polos ternyata reseptor estradiol dan progesteron yang berfungsi untuk kontraksi dan relaksasi otot polos. Talbot, *et al.*, (2005) menyebutkan bahwa otot polos tuba dibawah kendali sistem saraf simpatis, otot polos tuba merespon estrogen untuk menstimulasi kontraksi otot dan progesteron yang membuat rileks.

Pada kelompok perlakuan (P1, P2 dan P3) yang mendapat MSG dan ekstrak etanol brokoli berbagai dosis mengalami peningkatan tebal lapisan otot polos tuba fallopi, walaupun tidak berbeda secara signifikan antar kelompok. Hal ini disebabkan oleh kadar glutamat yang berlebih menyebabkan terganggunya sistem persyarafan dalam hal signaling hormon



pada hipofise anterior untuk merangsang sekresi FSH dan LH tidak terjadi, sehingga sekresi progesteron dan estrogen pada ovarium terganggu. Motilitas tuba sangat dipengaruhi oleh tiga hal yaitu jumlah sel epitel bersilia, sel epitel sekretorik yang berisi cairan nutritif bagi embrio dan gerakan peristaltik lapisan otot polos tuba. Hal tersebut dapat diartikan bahwa tuba fallopi dapat menjalankan fungsinya yaitu sebagai mediator hasil konsepsi dengan baik jika motilitas tersebut baik. Hal itu sangat dipengaruhi oleh siklus dari ovarium yang berhubungan dengan kadar hormon. Jika histologi tuba fallopi jelek, maka tuba tidak dapat menjadi mediator untuk proses konsepsi, yang artinya kejadian infertilitas dan kehamilan ektopik dapat terjadi. Kadar ROS yang meningkat diharapkan dapat dinetralisir oleh antioksidan yang ada didalam ekstrak etanol brokoli, sehingga metabolisme dalam tubuh seimbang.

Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Muchsin (2009) yaitu dengan pemberian MSG secara oral dengan dosis 6 mg/gBB dalam 0,1 cc aquadest pada mencit betina dewasa selama 30 hari yang secara nyata mempengaruhi ketebalan endometrium, diameter pembuluh darah dan kepadatan stroma. Hal ini disebabkan oleh penurunan sekresi hormon GnRH yang juga akan mempengaruhi sekresi FSH dan LH yang pada akhirnya sekresi hormon estrogen terhambat dan progesteron meningkat. Begitu juga dengan penelitian yang dilakukan oleh Megawati (2005) yang memberikan MSG selama 30 hari secara oral pada siklus estrus dan histologi ovarium tikus, dihasilkan bahwa dengan pemberian MSG 0,7 mg/gBB telah menyebabkan penurunan jumlah korpus luteum, peningkatan jumlah folikel atretik, sekunder dan tersier, serta kerusakan pada sel granulosa. Hal ini dapat terjadi karena sifat dari ion glutamat yang dapat menghambat



mekanisme kerja hormon *Gonadotropin* (FSH dan LH) yang berperan dalam signaling pada hipofise anterior untuk mensekresi estrogen pada ovarium sehingga fungsi dari ovarium terganggu dalam siklus folikuler.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Umami (2014), yaitu dengan pemberian MSG dosis 0,7 mg/gBB secara oral selama 42 hari dapat menyebabkan penurunan jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi secara signifikan. Maka dari itu dengan memberikan antioksidan dari ekstrak etanol brokoli diharapkan mampu untuk mengurangi radikal bebas yang disebabkan oleh glutamat.

Senyawa flavonoid yang terkandung dalam brokoli dipercaya berfungsi sebagai antioksidan. Mengonsumsi makanan yang mengandung antioksidan tinggi dapat mengurangi resiko terkena kanker. Aktivitas antioksidan selain dapat mencegah proses autooksidasi yang menghasilkan radikal bebas juga dapat menekan proliferasi sel kanker (Kurniasih, 2011). Hal tersebut dibuktikan oleh penelitian Vania (2019) juga menyatakan dalam penelitiannya bahwa pemberian ekstrak etanol brokoli dengan dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 750 mg/kgBB dapat berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan derajat sel busa pada gambaran histopatologi aorta tikus wistar hiperlipidemia.

Berdasarkan fakta dari kajian pustaka yang telah diuraikan diatas, maka hipotesis yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol brokoli meningkatkan jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi tikus wistar yang dipapar MSG telah dibuktikan.





6.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan sesuai dengan prosedur ilmiah, namun demikian masih memiliki keterbatasan yaitu tidak dapat membuktikan jalur mana yang dapat menimbulkan radikal bebas dan tidak dilakukannya uji fitokima terhadap kandungan flavonoid pada ekstrak etanol brokoli. Sehingga pada penelitian ini tidak diketahui jumlah total flavonoid yang mampu mempengaruhi jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi.

6.4 Implikasi Terhadap Kebidanan

Pemberian ekstrak etanol brokoli terhadap peningkatan jumlah sel epitel sekretorik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi memberikan manfaat yang baik, sehingga dapat diaplikasikan untuk mengurangi angka kejadian infertilitas karena faktor tuba fallopi, yang disebabkan oleh stress oksidatif.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Pemaparan MSG dapat menurunkan jumlah sel epitel sekretorik dan ketebalan lapisan otot polos tuba fallopi tikus putih.
2. Pemberian ekstrak etanol brokoli mampu meningkatkan rerata jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi tikus strain wistar yang dipapar MSG secara bermakna.
3. Pemberian ekstrak etanol brokoli menunjukkan tren peningkatan rerata ketebalan lapisan otot polos tuba fallopi tikus strain wistar yang dipapar MSG, namun tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok.

7.2 Saran

1. Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut terkait uji toksisitas ekstrak etanol brokoli jika akan diaplikasikan kepada manusia, karena belum dilakukan pengujian efek toksik ekstrak etanol brokoli.
2. Pada penelitian selanjutnya disarankan melakukan uji fitokimia untuk mengetahui jumlah total kandungan flavonoid ekstrak etanol brokoli, karena pada penelitian ini belum dilakukan uji fitokimia.
3. Pada masyarakat perlu mengkonsumsi brokoli secara rutin sehingga dapat mencegah masalah kesehatan akibat konsumsi MSG yang berlebihan.



DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, Budhi. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- Agarwal Ashok, Aponte-Mellado Anamar, Premkumar Beena J., Shaman Amani, Gupta Sajal. 2012. The Effect Of Oxidative Stress On Female Reproduction: A Review, *Reproductive Biology and Endocrinology*, 10(1): p.49.
- Al-Gubory, K.H., Fowler, P.A., Garrel, C. 2010. The Roles of Cellular Reactive Oxygen Species, Oxidative Stress and Antioxidants in Pregnancy Outcomes. *The International Journal Of Biochemistry And Biology*, 42(10): 1634-1650.
- Arundine, M. dan Tymianski, M. 2003. Molecular mechanisms of calciumdependent neurodegeneration in excitotoxicity. *Cell Calcium*, 34(4-5), pp.325-337.
- Bangun, A.P. 2012. *Jus Buah dan Sayuran Untuk Mengatasi Kanker*. Jakarta : Agromedia Pustaka. Hal. 34
- Beyreuther, K., HK Blesalski, JD Fernstrom, P Grimm, WP Hammes, U Heinemann, *et al.* 2006. Consensus Meeting: Monosodium Glutamate – an update. *EJCN*, 1-10.
- Bylander, A. 2014. *Progesterone's Effect on Gamete Transport in The Fallopian Tube*. Disertasi. Department of infectious diseases institute of biomedicine Sahlgrenska Academy at the University of Gothenburg, Sweden.
- Camihort, G., Dumm, C. G., Luna, G., Fersese, C. 2004. Relationship between pituitary and Adiposa Tissue after Hypothalamic Denervation in the female rats.
- Camihort G, Gomez DC, Luna G, *et al.* 2005. Relationship Between Pituitary and Adipose Tissue after Hypothalamic Denervation in the Female Rat. *Neuroendocrinology*. 179(4): 192-201.
- Croxato, H.B. 2002. Physiology Of Gamete And Embryo Transport Through The Fallopian Tube. *Facultad de Ciencias Biologicas*. Abstracts. Universidad Catolica de Chile. Santiago. Chile. 4(2): 160-169.
- Dalimartha Setiawan, 2005. *Atlas Tumbuhan Obat di Lingkungan sekitar*. Jakarta: Puspa Swara
- Diniz, Y. S., Faine, L. A., Galhardi, C. M., Rodrigues, H. G., Ebaid, G. X., Burneiko, R. C., Cicogna, A. C. & Novelli, E. L. 2005. Monosodium glutamate in standart and high-fiber diets : metabolic syndrome and oxydative stress in rats. *Nutrition*. 21: 749-55.
- Durrand D., Caruso C., Carniglia L., Lasaga M. 2010. Metebotropic Glutamate Receptor 3 Activation Prevents Nitric Oxide-Induced Death In Cultured Rat Astrocytes, *Journal Of Neurochemistry*, 112(2):pp. 420-433.

- EI-Mowafi, D. M. 2012. Fallopian Tube. Reproductive Endocrinology and Infertility. Wayne State University, United States of America. (Online) www.gfmer.ch/International_activities_En/EI_Mowafi/Fallopian_tube.htm
- Eweka, O.A., Eweka A., Om'Iniabohs F. A. 2010. Histological Studies Of The Monosodium Glutamate On The Ovaries Of Adult Wistar Rats, *Annals Of Medical And Health Sciences Research*. 1(1): pp. 37-44.
- Eweka, O.A., Iniabohs. 2011. Histological Studies of the Effect of Monosodium Glutamate on the Ovaries of Adult Wistar Rats. *Annals of Medical and Health Science Research*. 1 (1): 37-44.
- Farombi EO, Onyema OO. 2006. Monosodium Glutamate-Induced Oxidative Damage and Genotoxicity In The Rat : Modulatory Role Of Vitamin C, Vitamin E and Quercetin. *Human & Experimental Toxicology*.
- Food and Drug Administration. 2012. Questions And Answer On Monosodium Glutamate (MSG). Report From The Agencies No.265. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3649108/
- FSANZ. 2003. *Monosodium Glutamate A Safety Assessment : Technical Report Series No. 20*, Food Standards Australia New Zealand (FSANZ), New Zealand, Australia.
- Ganong, W.F. 2003. Review of Medical Physiology. Twenty First Edition. Mc Graw Hill, p. 425-429
- Ganong, W.F. 2010. *Ganong's Review of Medical Physiology* 23rd ed. United States: The McGraw-Hill Companies.
- Geha, RS., Alexa Beiser, Clement Ren, Roy Patterson, Paul A. Greenberger, Leslie C. Grammer, *et al.* 2000. Review of Alleged Reaction to Monosodium Glutamate and Outcome of a Multicenter Double-Blind Placebo-Controlled Study. *J. Nutr.* 130: 1058S-1082S.
- Gill, S., & Pulido, O. 2001. Glutamate Receptors in Peripheral Tissues : Current Knowledge , Future Research , and Implications for Toxicology. 29(2), 208–223.
- Gupta S, Sekhon L, Aziz N and Agarwal A. 2008. The Impact Of Oxidative Stress On Female Reproduction and Art: An Evidence-Based Review. *Infertility and Assisted Reproduction*. 64: 178-186.
- Halliwell, B. dan Gutteridge, J. M. C. 2000. *Free Radical in Biology and Medicine*, Ed 4th, Oxford University Press, New York.
- Herbarium Medanense. 2012. *Identifikasi Tumbuhan*. Medan: Sumatera Utara.
- Kurniasih, R. 2011. Karakteristik Simplisia dan Uji Sitotoksitas Ekstrak Bunga Tumbuhan Brokoli Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Fakultas Farmasi. Universitas Sumatera Utara.
- Lawrence, Riggs. 2003. Selective Estrogen Receptor Modulators-Mechanism Of Action And Application To Clinical Practice. *New England Journal Med.* 348(6): 18-29.



- Legoh, C., Kaseke, M.M., Pasiak, T.F., 2017. Gambaran histologik hati tikus Wistar yang diberi jus tomat setelah diinduksi monosodium glutamat. *Jurnal e-Biomedik* 5.
- Lutfina DR. 2012. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Brokoli (*Brassica oleracea L. Cv. Group Broccoli*). Skripsi. Diterbitkan, Fakultas MIPA Universitas Islam, Bandung.
- Lyons AR, Saridogan E, and Djahanbakhch O. 2006. The Reproductive Significance of Human Fallopian Tube Cilia. *Human Reproductive Updates*. 7 (1): 363-372.
- Marcondes, F.K., Bianchi, F.J., dan Tanno, A.P. 2002. Determination of the estrous cyclephase of rats: some helpful considerations, *Journal Brazilian Archive of Biology and Technology*. 4A, 600-614.
- Megawati, D., Sutarno, dan Listyawati, S. 2005. Siklus Estrus Dan Struktur Histologis Ovarium Tikus Putih Setelah Pemberian MSG Secara Oral. *Bio Smart*. 7 (1):47-52.
- Moreno, MC., Lopez-B., Gracia, V. 2006. Chemical and Biological Characterisation of Nutraceutical Compound of Broccoli. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. vol. 4.p.1508-22.
- Muchsin, R. 2009. Pengaruh Pemberian MSG Terhadap Histologi Endometrium Mencit. [Tesis]. Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Parker, G.A. Picut, C.A. 2016. *Atlas of Histology of Juvenile Rat*. Elsevier, Amsterdam. 411-414.
- Pham-Huy, L.A., Hua, H., dan C. 2008. Pham-Huy. Free Radicals, Antioxidants in Diseases and Health, *Int J Biomed Sci*, 4(2), 89-96.
- Prawirohardjo, S. 2014. *Ilmu Kandungan*. Jakarta : PT Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo.
- Prawirohardjono, W., Iwan Dwiprahasto, Indwiani Astuti, Soeliadi Hadiwandowo, Erna Kristin, Mustofa Muhammad, *et al.* 2000. The Administration to Indonesians of Monosodium L-Glutamate in Indonesian Foods : An Assesment of Adverse Reactions in a Randomized Double Blind, Crossover, Placebo-Controlled Study. *J. Nutr.* 130: 1074S-1076S.
- Rahmanisa, Soraya. 2014. "Steroid Sex Hormone And It's Implementation to Reproductive Function." *JUKE Unila*. 4(7): 97-105
- Rueda C.B., Liorente-Foich I., Traba J., Amigo I., Gonzalez-Sanchez P., Contreras L., *et al.* 2016. Glutamate Excitotoxicity and Ca²⁺-Regulation Of Respiration: Role Of The Ca²⁺ Activated Mitochondrial Transporters (CaMCs), *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 1857(8) pp. 1158-1166.
- Sabri, E., Supriharti, D., Utama, G.E. 2006. Efek Pemberian Monosodium Glutamat (MSG) Terhadap Perkembangan Embrio Mencit (Mus



muculus L.) Strain DDW Selama Periode Praimplantasi Hingga Organogenesis. *Jurnal Biologi Sumatera Utara*. 1(1): 8-14.

Sand, J. 2005. Short History of MSG: Good Science, Bad Science, and Taste Cultures. *The Journal of Nutrition*. 5 (4): 38– 49.

Sayuti, Kesuma & MS Dr. Ir. Yesrina. 2015. *Antioksidan Alami Dan Sintetik*. Cetakan pertama. Andalas Padang University Press.

Seo H.J, Ham H.D, Jin H.Y, Lee W.H, Hwang H.S. 2010. Chronic Administration Of Monosodium Glutamate Under Chronic Variable Stress Impaired Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Function In Rats, *The Korean Journal Of Physiology & Pharmacology : Official Journal Of The Korean Physiological Society And The Korean Society Of Pharmacology*, 14(4):pp, 213-221.

Setyaningsih, Ririn Diah, Noor Soesanti Handajani, And Marti Harini. 2006. The effect of broccoli (*Brassica oleracea* var botrytis) extract to the microanatomy structure of liver and kidney in mice (*Mus musculus* L.) after exposed by lead acetate (Pb-acetate) orally. *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry* 4.1, 14-21.

Shinde A., Ganu J. Dan Naik P. 2012. Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stress : A Review, *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2):pp. 63-66.

Sielma D. 2015. Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea* L var. *Italica*) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Hepar Tikus Putih Galur Wistra Yang Diinduksi DMBA (7,12-Dimethylbenz (α) antracene). Skripsi :Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Sukmaningsih, A.A.S.A., Ermayanti, M.A.G.I., Wiratmini, I.N., Sudarti, W.N. 2011. Gangguan Spermatogenesis Setelah Pemberian MSG Pada Mencit (*Mus musculus* L). Jurusan Biologi Universitas Udayana-Bali. *Jurnal Biologi* 15(2): 49-52

Talbot, P., Riveles, K. 2005. Smoking and Reproduction: The Oviduct as a Target of Cigarette Smoke. *Reproductive Biology and Endocrinology. BioMed Central*. 3(52): 1-17.

Tandon, F. R. 2005. Oxidative Stress: A New Strategy in Cancer Treatment. *JK Science*. Vol.7 No.1.

Tay, J.I., Rutherford, A.J., Killick, S.R., Maguines, S.D., Patridge, R.J., Leese, H.J. 1997. Human Tubal Fluid: Production, Nutrient Composition And Response To Adrenergic Agents. *European Society For Human And Embriology*. 12(11): 2451-2456.

Umami, Riza, Pande Made Dwijayasa, and Sri Winarsih. 2014. Pengaruh Vitamin C dan E terhadap Histologi Tuba Fallopii pada Tikus yang Dipapar MSG. *Jurnal Kedokteran Brawijaya* 28.2, 63-67.

USDA. 2012. National Nutrient Database for Standard Reference26. Broccoli, Onion, Garlic and Coriander. United States : US: *Departement of Agriculture Nutrient Data Laboratory and Health*;





Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Review: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Inter J Biochem Cell Biol.* 39:44-84.

Vania, D., Basyar, E., & Soeharti, C. 2019. Pengaruh Pemberian Ekstrak Brokoli (*Brassica Oleracea L. Var Italica*) Terhadap Histopatologi Aorta Tikus Wistar Hiperlipidemia. *Jurnal Kedokteran Diponegoro.* 8(1), 121-132.

Wardani, Rizka Nuzula, Elly Nurus Sakinah, and Yudha Nurdian. 2016. 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, 196-199.

Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radical*. Yogyakarta: Kanisius.

LAMPIRAN

Lampiran 1.

SURAT KETERANGAN LAIK ETIK



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA
 FAKULTAS KEDOKTERAN
 KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
 Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
 Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
 http://www.fk.ub.ac.id e-mail: kep.fk@ub.ac.id

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 novergicus*) Strain Wistar Betina yang Dipapar Monosodium Glutamat (MSG).
- PENELITI : Annisa Istighfari Hernanda R
Flora Nunjil Naprilla
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.

Malang, 22 JAN 2019
 Ketua,

 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 (Amandemen Protokol).

Lampiran 2.

SURAT KETERANGAN KONSULTASI PEMBACAAN SLIDE**KETERANGAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa mahasiswa dengan:

Nama : Onnitia Dwi Putri Chusyairi

NIM : 155070601111021

Program Studi: Sarjana Kebidanan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

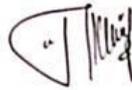
Judul : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Brokoli (*Brassica oleracea*) Terhadap Jumlah Sel Epitel Sekretonik dan Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi Tikus Putih (*Rattus novvergicus*) Strain Wistar yang Dipapar Monosodium Glutamat (MSG)

Adalah benar selama proses pengerjaan, analisa slide histopatologi dengan pewarnaan Hematoxyline Eosin (HE) untuk menghitung jumlah sel epitel sekretonik dan tebal lapisan otot polos tuba fallopi 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



Onnitia Dwi Putri Chusyairi

Diketahui



dr. Aina Angelina, Sp.PA



Lampiran 3.

HASIL PENGUKURAN

| KELOMPOK | TEBAL LAPISAN OTOT POLOS (μm) | JUMLAH SEL EPITEL SEKRETORIK (sel) |
|----------|---|---------------------------------------|
| KN-1 | 329,99 | 46,4 |
| KN-2 | 396,6 | 44,2 |
| KN-3 | 275,78 | 61,6 |
| KN-4 | 217,85 | 59,8 |
| KN-5 | 204,75 | 46,8 |
| KN-6 | 265,1 | 45,4 |
| KP-1 | 237,18 | 21,4 |
| KP-2 | 249,36 | 26,2 |
| KP-3 | 264,27 | 31,2 |
| KP-4 | 228,84 | 28,8 |
| KP-5 | 236,09 | 27,4 |
| KP-6 | 214,77 | 31,6 |
| P1-1 | 250,62 | 40,4 |
| P1-2 | 326,34 | 52,6 |
| P1-3 | 198,46 | 48,8 |
| P1-4 | 311,25 | 42 |
| P1-5 | 450,2 | 39,2 |
| P1-6 | 269,54 | 51 |
| P2-1 | 301,69 | 69 |
| P2-2 | 299,34 | 85,4 |
| P2-3 | 212,97 | 61,6 |
| P2-4 | 483,04 | 85,2 |
| P2-5 | 231,98 | 86 |
| P2-6 | 470,03 | 71,4 |
| P3-1 | 345,64 | 64,6 |
| P3-2 | 310,98 | 71,2 |
| P3-3 | 327,92 | 65 |
| P3-4 | 390,29 | 61,4 |
| P3-5 | 208,67 | 72,4 |
| P3-6 | 370,86 | 66,2 |

Lampiran 4.

ANALISIS DATA**Sel Epitel Sekretorik Tuba Fallopi**

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

| | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|----------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| JS Epitel Sekretorik | .101 | 30 | .200* | .963 | 30 | .374 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

2. Oneway

Descriptives

| JS Epitel Sekretorik | | | | | | | | | |
|----------------------|----|---------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|--|
| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum | |
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | | |
| K Neg | 6 | 50.7000 | 7.81870 | 3.19197 | 42.4948 | 58.9052 | 44.20 | 61.60 | |
| K Pos | 6 | 27.7667 | 3.75961 | 1.53485 | 23.8212 | 31.7121 | 21.40 | 31.60 | |
| P1 | 6 | 45.6667 | 5.81951 | 2.37580 | 39.5595 | 51.7739 | 39.20 | 52.60 | |
| P2 | 6 | 76.4333 | 10.48230 | 4.27938 | 65.4328 | 87.4338 | 61.60 | 86.00 | |
| P3 | 6 | 66.8000 | 4.20286 | 1.71581 | 62.3894 | 71.2106 | 61.40 | 72.40 | |
| Total | 30 | 53.4733 | 18.37235 | 3.35432 | 46.6130 | 60.3337 | 21.40 | 86.00 | |

Test of Homogeneity of Variances

| JS Epitel Sekretorik | | | | |
|----------------------|-----|-----|------|--|
| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. | |
| .820 | 4 | 25 | .525 | |

ANOVA

| JS Epitel Sekretorik | | | | | |
|----------------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| Between Groups | 8605.379 | 4 | 2151.345 | 45.449 | .000 |
| Within Groups | 1183.380 | 25 | 47.335 | | |
| Total | 9788.759 | 29 | | | |

3. Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: JS Epitel Sekretorik

Tukey HSD

| (I) Kelompok | (J) Kelompok | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------|--------------|-----------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| K Neg | K Pos | 22.9333* | 3.97220 | .000 | 11.2675 | 34.5992 |
| | P1 | 5.0333 | 3.97220 | .713 | -6.6325 | 16.6992 |
| | P2 | -25.7333* | 3.97220 | .000 | -37.3992 | -14.0675 |
| | P3 | -16.1000* | 3.97220 | .004 | -27.7659 | -4.4341 |
| K Pos | K Neg | -22.9333* | 3.97220 | .000 | -34.5992 | -11.2675 |
| | P1 | -17.9000* | 3.97220 | .001 | -29.5659 | -6.2341 |
| | P2 | -48.6667* | 3.97220 | .000 | -60.3325 | -37.0008 |
| | P3 | -39.0333* | 3.97220 | .000 | -50.6992 | -27.3675 |
| P1 | K Neg | -5.0333 | 3.97220 | .713 | -16.6992 | 6.6325 |
| | K Pos | 17.9000* | 3.97220 | .001 | 6.2341 | 29.5659 |
| | P2 | -30.7667* | 3.97220 | .000 | -42.4325 | -19.1008 |
| | P3 | -21.1333* | 3.97220 | .000 | -32.7992 | -9.4675 |
| P2 | K Neg | 25.7333* | 3.97220 | .000 | 14.0675 | 37.3992 |
| | K Pos | 48.6667* | 3.97220 | .000 | 37.0008 | 60.3325 |
| | P1 | 30.7667* | 3.97220 | .000 | 19.1008 | 42.4325 |
| | P3 | 9.6333 | 3.97220 | .142 | -2.0325 | 21.2992 |
| P3 | K Neg | 16.1000* | 3.97220 | .004 | 4.4341 | 27.7659 |
| | K Pos | 39.0333* | 3.97220 | .000 | 27.3675 | 50.6992 |
| | P1 | 21.1333* | 3.97220 | .000 | 9.4675 | 32.7992 |
| | P2 | -9.6333 | 3.97220 | .142 | -21.2992 | 2.0325 |

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

Homogeneous Subsets

JS Epitel Sekretorik

Tukey HSD^a

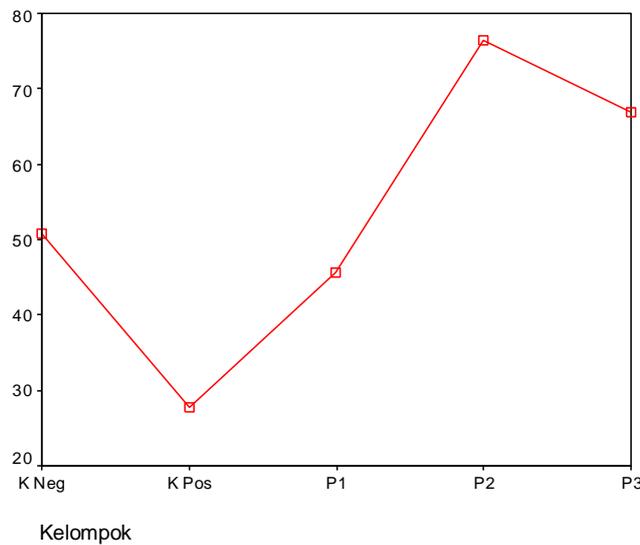
| Kelompok | N | Subset for alpha = .05 | | |
|----------|---|------------------------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| K Pos | 6 | 27.7667 | | |
| P1 | 6 | | 45.6667 | |
| K Neg | 6 | | 50.7000 | |
| P3 | 6 | | | 66.8000 |
| P2 | 6 | | | 76.4333 |
| Sig. | | 1.000 | .713 | .142 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.



Means Plots



Tebal Lapisan Otot Polos Tuba Fallopi

1. Uji Normalitas

Tests of Normality

| | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|------------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Tebal Lapisan OP | .088 | 30 | .200* | .988 | 30 | .973 |

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

a. Lilliefors Significance Correction

2. Oneway

Descriptives

| | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
|-------|----|----------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| | | | | | K Neg | 6 | | |
| K Pos | 6 | 238.4183 | 17.00571 | 6.94255 | 220.5719 | 256.2647 | 214.77 | 264.27 |
| P1 | 6 | 301.0683 | 86.08149 | 35.14262 | 210.7313 | 391.4053 | 198.46 | 450.20 |
| P2 | 6 | 333.1750 | 116.63155 | 47.61463 | 210.7777 | 455.5723 | 212.97 | 483.04 |
| P3 | 6 | 309.0600 | 56.47510 | 23.05587 | 249.7930 | 368.3270 | 208.67 | 370.86 |
| Total | 30 | 292.6800 | 78.46893 | 14.32640 | 263.3792 | 321.9808 | 198.46 | 483.04 |



Test of Homogeneity of Variances

Tebal Lapisan OP

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 1.791 | 4 | 25 | .162 |

ANOVA

Tebal Lapisan OP

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|-------|------|
| Between Groups | 30263.272 | 4 | 7565.818 | 1.275 | .306 |
| Within Groups | 148300.5 | 25 | 5932.021 | | |
| Total | 178563.8 | 29 | | | |



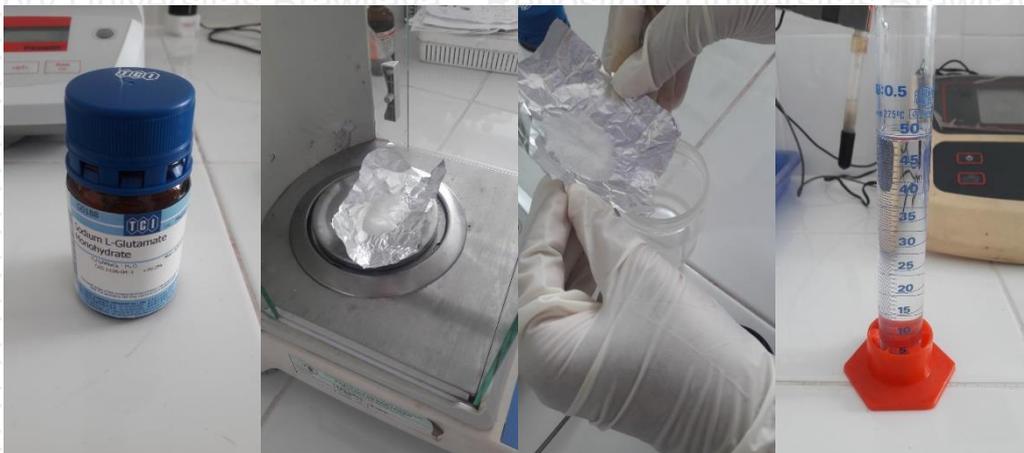
Lampiran 5.

DOKUMENTASI

1. Proses pengenceran ekstrak etanol brokoli



2. Proses Pengenceran MSG



3. Adaptasi hewan coba





4. Pemberian perlakuan hewan coba



5. Swab vagina



6. Terminasi hewan coba dan Pembuatan Slide Histopatologi

