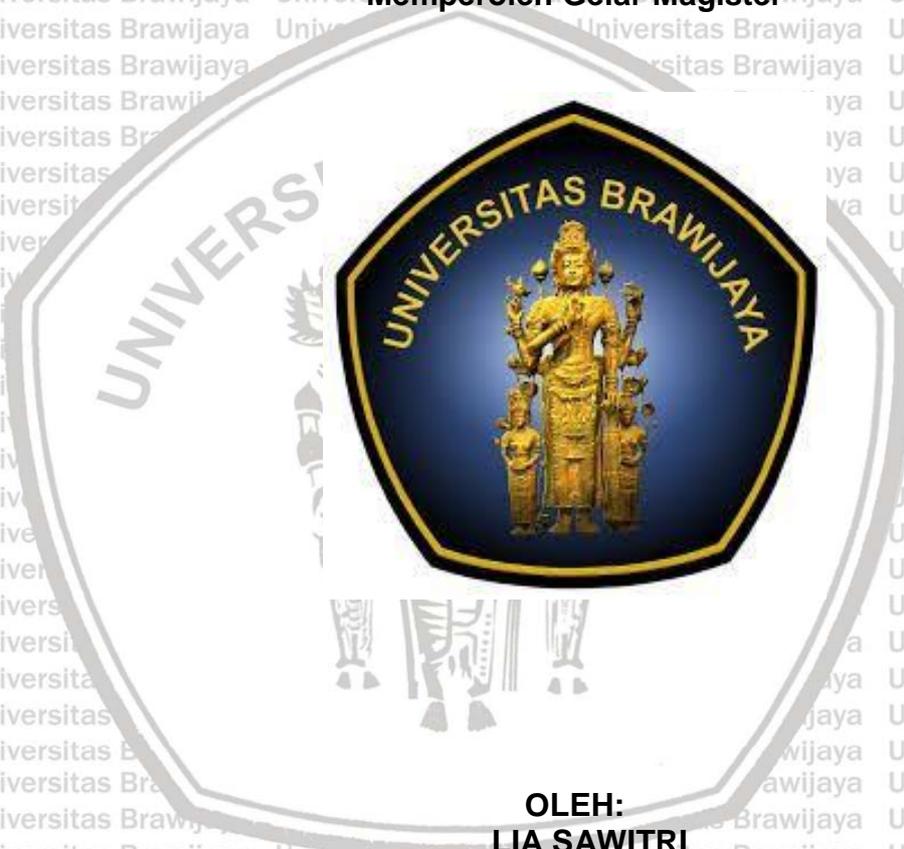


**EKSTRAK TEH HIJAU MENCEGAH PENURUNAN
EKSPRESI ER- α DAN JUMLAH SEL EPITEL MUKOSA
TUBA FALLOPI PADA TIKUS BETINA
YANG DIPAPAR SIPERMETRIN**

TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Magister**



**OLEH:
LIA SAWITRI
166070400111020**

**PROGRAM STUDI MAGISTER KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

TESIS

EKSTRAK TEH HIJAU MENCEGAH PENURUNAN
EKSPRESI ER- α DAN JUMLAH SEL EPITEL MUKOSA
TUBA FALLOPI PADA TIKUS BETINA
YANG DIPAPAR SIPERMETRIN

OLEH :
LIA SAWITRI
166070400111020

Dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 18 Juli 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat

KOMISI PENGUJI


dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA (K)
NIP. 196910281997022001
Ketua


Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., Msi
NIP. 195408231981032001
Anggota Penguji


Dr.dr. Nurdiana, M.Kes
NIP. 195510151986032001
Anggota Penguji


Prof.Dr.dr. Sanarto Santoso, DTM&H, Sp. MK
NIP. 194812201980021002
Anggota Penguji

PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah TESIS ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis di kutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah TESIS ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia tesis ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku. (UU No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 Ayat 2 dan pasal 70)

Malang, 18 Juli 2018

Mahasiswa,



Nama : Lia Sawitri
NIM : 166070400111020
PS : Magister Kebidanan
Fak : Kedokteran



Karya ilmiah ini kutujukan kepada
Bapak dan Ibu tersayang,
Suami dan Anakku tercinta
Andrian dan Saddam

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis ini dengan judul **"Ekstrak Teh Hijau Mencegah Penurunan Ekspresi ER- α dan Jumlah Sel Epitel Mukosa Tuba Fallopi pada Tikus Betina yang Dipapar Sipermetrin"**

Dengan selesainya tesis ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

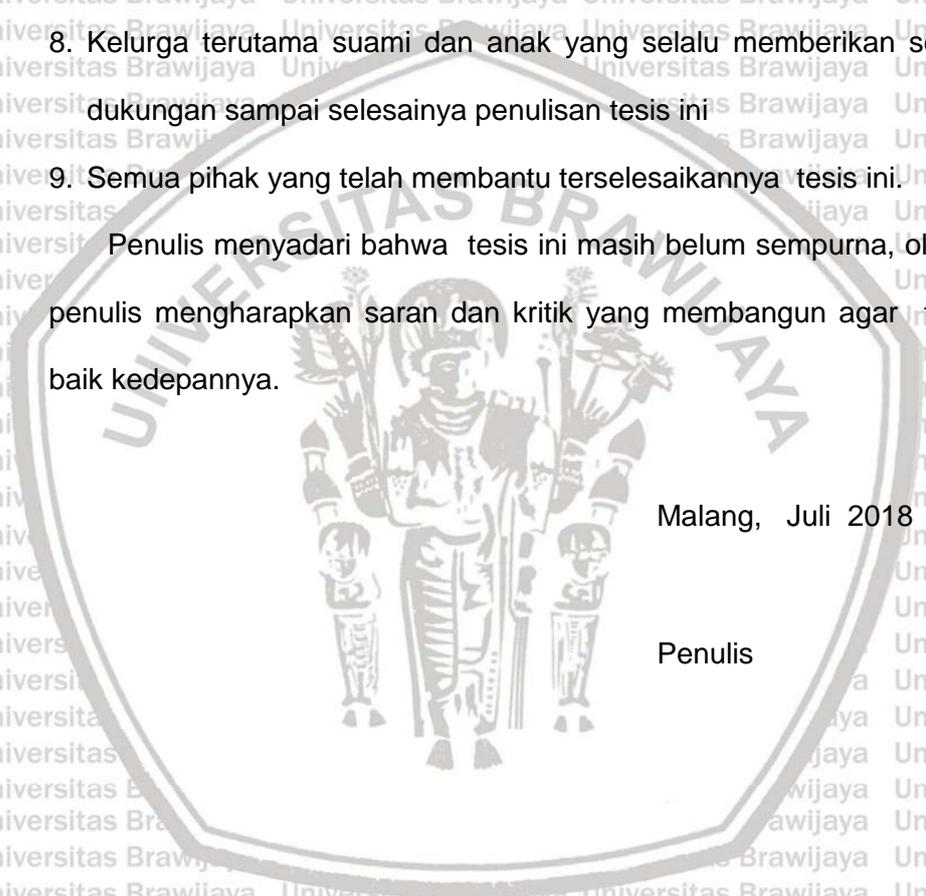
1. Prof.Dr. Ir. Nuhfil Hanani AR., selaku Rektor Universitas Brawijaya Malang beserta segenap jajarannya atas kesempatan dan fasilitas pendidikan yang diberikan selama menempuh pendidikan di Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Prof. Dr. Ir. Mohammad Bisri, MS, selaku Rektor Universitas Brawijaya Malang Periode 2014-2018 beserta segenap jajarannya atas kesempatan dan fasilitas pendidikan yang diberikan selama menempuh pendidikan di Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, atas izin yang diberikan selama penulis dapat menempuh pendidikan di Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang
4. Dr. dr. Bambang Rahardjo, SpOG (K), selaku Ketua Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang telah memberikan dukungan selama menempuh pendidikan di Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

5. dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA (K) selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan masukan selama penyusunan tesis ini
6. Dr. Dra Sri Winarsih, Apt., MSi., selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan masukan selama penyusunan tesis ini
7. Dr. dr. Nurdiana, M.Kes dan Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso, DTM&H, Sp.MK., selaku dewan penguji yang telah memberikan masukan dan arahan demi kesempurnaan tesis ini
8. Kelurga terutama suami dan anak yang selalu memberikan semangat dan dukungan sampai selesainya penulisan tesis ini
9. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya tesis ini.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih belum sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun agar tesis ini lebih baik kedepannya.

Malang, Juli 2018

Penulis



RINGKASAN

Lia Sawitri

Ekstrak Teh Hijau Mencegah Penurunan Ekspresi ER- α dan Jumlah Sel Epitel Mukosa Tuba Fallopi pada Tikus Betina yang Dipapar Sipermetrin, Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Ketua Komisi Pembimbing: dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA (K); Anggota : Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., MSi.

Infertilitas merupakan kegagalan untuk memperoleh kehamilan setelah satu tahun atau lebih melakukan hubungan seksual secara rutin tanpa menggunakan alat kontrasepsi. Salah satu faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap infertil yaitu pestisida. Pestisida yang sering digunakan yakni sipermetrin. Akumulasi sipermetrin didalam tubuh dapat menyebabkan adanya stres oksidatif, yang akan mengganggu sekresi FSH, sehingga menyebabkan pematangan folikel terganggu yang berakibat pada penurunan hormon estrogen. Hormon estrogen berperan penting dalam proliferasi sel-sel epitel mukosa pada tuba fallopi yang diperantarai oleh reseptor estrogen.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak teh hijau terhadap ekspresi reseptor estrogen- α dan jumlah sel epitel mukosa pada tikus yang dipapar sipermetrin. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*, menggunakan 25 tikus betina yang dibagi kedalam lima kelompok. Kelompok kontrol negatif (tanpa perlakuan), kelompok kontrol positif (sipermetrin 20mg/KgBB), PI (sipermetrin 20mg/KgBB+ekstrak teh hijau 7 mg/tikus/hari), PII (sipermetrin 20mg/KgBB + ekstrak teh hijau 14 mg/tikus/hari), dan PIII (sipermetrin 20mg/KgBB + ekstrak teh hijau 28 mg/tikus/hari).

Hasil uji Anova menunjukkan bahwa rerata ekspresi RE- α tertinggi tampak pada kelompok perlakuan 3 (sipermetrin 20mg/KgBB +ekstrak teh hijau 28 mg/tikus/hari). Nilai rerata jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi tertinggi juga pada kelompok perlakuan 3 (sipermetrin 20mg/KgBB + ekstrak teh hijau 28 mg/tikus/hari).

Konsentrasi sipermetrin yang tinggi menyebabkan peningkatan ROS. Teh hijau dapat berperan sebagai *scavenging* dalam radikal bebas. Polifenol ini, mempunyai gugus hidroksil (-OH) sehingga dapat menetralkan radikal bebas dengan cara donor atom hidrogen sehingga molekul non radikal yang stabil. Ekstrak teh hijau dapat mencegah penurunan ekspresi reseptor esterogen- α dan berkurangnya jumlah sel epitel mukosa pada tikus yang dipapar sipermetrin.

SUMMARY**Lia Sawitri**

Green Tea Extract Prevents the Decreasing of Estrogen- α Receptors and Number of Mucosa Epithelium Cells of Fallopian Tube on Female Rats Exposed by Cypermethrin. Graduate Program of Midwifery; Medical Faculty of Brawijaya University. Chairman of the commission: dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA (Chair); Member: Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt, MSi

Infertility is a failure to get pregnant after 1 years or more regular sexual intercourse without using contraceptives. One of environmental factors influencing infertility rate is pesticide (Indrayani, 2011). Pesticides are often used is cypermethrin. Accumulation of cypermethrin in human body might cause oxidative stress, which would disturbs FSH secretion and it will also disturb follicle maturation which in turn reduces the number of Estrogen hormones. In fact, Estrogen hormones play important role in proliferation of mucosa epithelium cell on fallopian tube mediated by estrogen receptor.

This study aimed to explore the effect of green tea extract on expression of Estrogen- α Receptors and number of mucosa epithelium cells on Rats exposed by Sipermetrin. This is an experimental study employing post test only control group design, using 25 female rats which are divided into five groups. The groups have negative control group (without treatment), positive control group (cypermethrin 20mg/kg bodyweight), PI (cypermethrin 20 mg/Kg bodyweight+ 7 mg green tea extract / rat/day), PII (20 mg cypermethrin /kg bodyweight + 14 mg green tea extraxt/rat/day) and PIII (20 mg cypermethrin /Kg bodyweight + 28 mg green tea extract/rat/day).

Based on Anova test, it is found out that the highest average of RE- α is on treatment group 3(20 mg cypermethrin / kg bodyweight + 28 green tea extract / rat / day). The highest average number of mucosa epithelium cell of fallopian tube is also on treatment group 3 (20 mg cypermethrin / kg bodyweight + 28 green tea extract/rat/day).

High concentration of Sipermetrin on brain may increase ROS. Green tea functions as scavenging for free radicals. The polyphenol has hydroxyl cluster (-OH) that may neutralize free radicals by hydrogen atom donor to stabilize make non radical molecule.

Green tea extract prevents decreased the RE- α receptors and also prevents to reducing the number of mucosa epithelium cells of fallopian tube on rats which are exposed by Sipermetrin.

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS	iv
HALAMAN PERUNTUKAN	v
KATA PENGANTAR	vi
RINGKASAN	viii
SUMMARY	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Infertilitas	7
2.1.1. Definisi Infertil	7
2.1.2. Epidemiologi Infertil	7
2.1.3. Faktor Penyebab Infertil Pada Wanita	8
2.1.4. Patofisiologi Infertil	9
2.1.5. Diagnosa Infertil	9
2.1.6. Terapi Infertilitas	10
2.2. Reseptor Estrogen	11
2.3. Tuba Fallopi	12
2.4. Sipermetrin	14
2.4.1. Sipermetrin	14
2.4.2. Efek Sipermetrin Pada Reproduksi	16
2.4.3. Farmakokinetik Sipermetrin	17
2.4.4. Mekanisme Toksisitas	19
2.5. Radikal Bebas dan Stres Oksidatif	21
2.5.1. Radikal Bebas	21
2.5.2. Stres Oksidatif	23
2.6. Antioksidan	23



2.7.	Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i>)	25
2.7.1.	Klasifikasi Teh Hijau	25
2.7.2.	Komposisi Teh Hijau.....	26
2.7.3.	Metode Ekstraksi Maserasi Teh Hijau.....	28
2.7.4.	Mekanisme Teh Hijau Sebagai Antioksidan.....	30
2.7.5.	Efek Samping Teh Hijau	32
2.7.6.	Dosis Teh Hijau	32
2.8.	Hewan Coba	33
BAB 3 KERANGKA TEORI DAN KONSEP PENELITIAN		37
3.1.	Kerangka Teori	37
3.2.	Kerangka Konsep	41
3.3.	Hipotesis Penelitian	43
BAB 4 METODE PENELITIAN		45
4.1.	Desain Penelitian	45
4.2.	Tempat dan Waktu Penelitian	45
4.3.	Sampel	45
4.4.	Besar Sampel	46
4.5.	Pembagian Kelompok.....	47
4.6.	Variabel Penelitian	48
4.7.	Definisi Operasional.....	48
4.8.	Bahan dan Alat	49
4.9.	Prosedur Penelitian	53
4.10.	Teknik Analisis Data	63
4.11.	Alur Penelitian.....	65
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA.....		66
5.1.	Hasil Ekstraksi Teh Hijau	66
5.2.	Karakteristik Subyek	66
5.3.	Hasil Penelitian Ekspresi Reseptor Estrogen- α	68
5.4.	Hasil Penelitian Jumlah Sel Epitel Mukosa Tuba Fallopi	71
5.5.	Hubungan Ekspresi Reseptor Estrogen α dengan Jumlah Sel Epitel Mukosa Pada Tuba Tikus Yang Dipapar Sipermetrin.....	74
BAB 6 PEMBAHASAN		76
6.1.	Pengaruh Ekstrak Teh Hijau terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen- α pada Tuba Fallopi Tikus yang Dipapar Sipermetrin ...	76
6.2.	Pengaruh Ekstrak Teh Hijau terhadap Jumlah Sel Epitel Mukosa pada Tuba Fallopi Tikus yang Dipapar Sipermetrin	78
6.3.	Hubungan Dosis Ekstrak Teh Hijau dengan Ekspresi Reseptor Estrogen- α dan Jumlah Sel Epitel Mukosa pada Tuba Fallopi Tikus yang Dipapar Sipermetrin	80
6.4.	Hubungan Ekspresi Reseptor Estrogen- α dengan Jumlah Sel Epitel Mukosa pada Tuba Fallopi Tikus yang Dipapar Sipermetrin	82
6.5.	Keterbatasan Penelitian.....	83
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN		85
7.1.	Kesimpulan.....	85
7.2.	Saran.....	85
DAFTAR PUSTAKA		86

LAMPIRAN

93

RIWAYAT HIDUP

113



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Zat Kimia Daun Teh Hijau 28



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Histologi Tuba Fallopi Tikus 14

Gambar 2.2. Struktur Kimia Sipermetrin 16

Gambar 2.3. Teh Hijau (*Camellia sinensis*) 25

Gambar 2.4. Struktur Kimia Kandungan Teh Hijau 28

Gambar 2.5. Hewan Coba *Rattus novergicus* galur wistar 33

Gambar 2.6. Fase Proestrus 34

Gambar 2.7. Fase Estrus 35

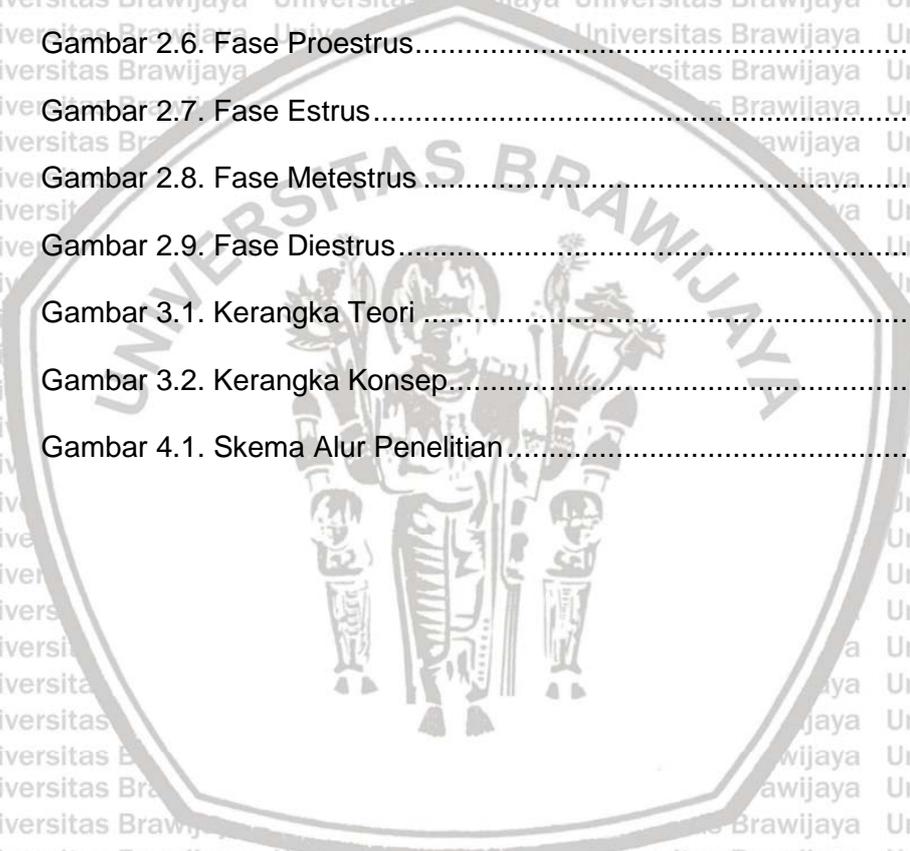
Gambar 2.8. Fase Metestrus 35

Gambar 2.9. Fase Diestrus 36

Gambar 3.1. Kerangka Teori 37

Gambar 3.2. Kerangka Konsep 41

Gambar 4.1. Skema Alur Penelitian 64



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Kelaikan Etik 93

Lampiran 2. Surat Keterangan Bebas Plagiasi 94

Lampiran 3. *Letter Of Accepted* 95

Lampiran 4. Sipermetrin 96

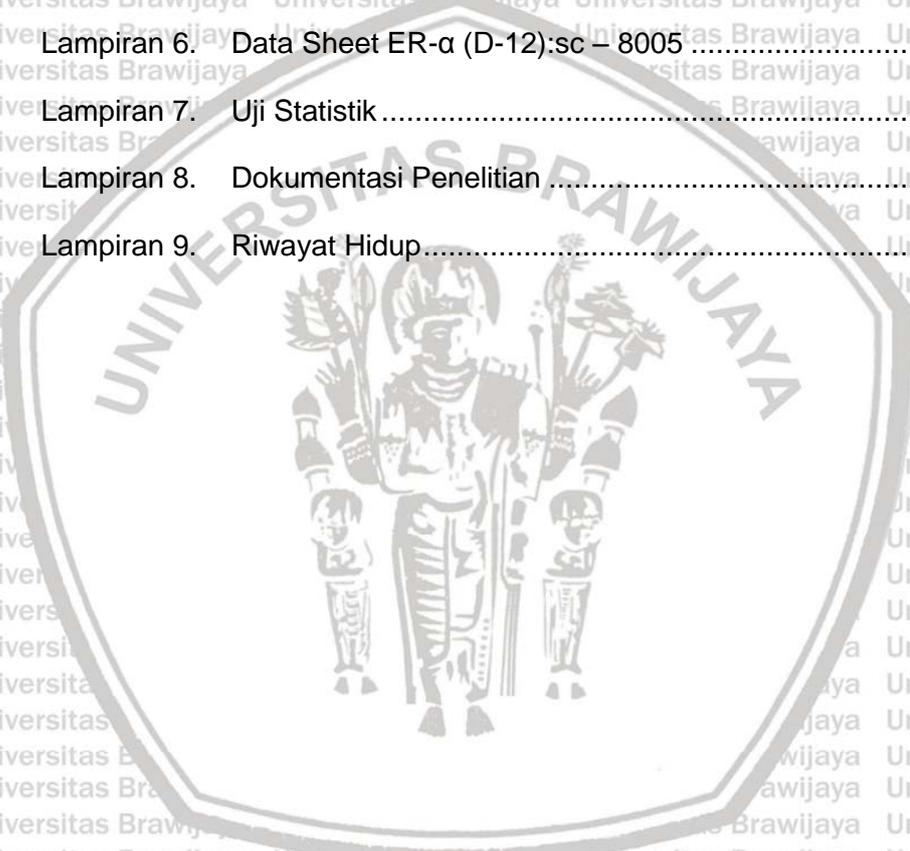
Lampiran 5. Teh Hijau 97

Lampiran 6. Data Sheet ER- α (D-12).sc – 8005 98

Lampiran 7. Uji Statistik 99

Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian 108

Lampiran 9. Riwayat Hidup 113



DAFTAR SINGKATAN

ATP	:	Adenosina Trifosfat
Ca ²⁺	:	Calcium
Camp	:	Adenosina Monofosfat Siklik
CAT	:	Catalase
COOH	:	Carboxy
DNA	:	Deoksiribonukleat Acid
EC	:	Epicatechin
ECG	:	Epicatechin Gallate
EGC	:	Epigallocatechin
EGCG	:	Epigallocatechin Gallate
ER	:	Reseptor Estrogen
FSH	:	Follicel Stimulating Hormone
Gnrh	:	Gonadotropin Relasing Hormone
Gpx	:	Glutathione Peroxidase
GSH	:	Glutatione Reduktase
H ₂ O ₂	:	Hidrogenperoksida
HE	:	Hematosiklin Eosin
IHC	:	Immunohistochemistry
LH	:	Luteinizing Hormone
LOO	:	Peroksil
LSD	:	Least Significant Difference
NO	:	Nitrit Oksida
O ₂ ⁻	:	Superoksida
OH ⁻	:	Hidroksil
¹ O ₂	:	Singlet Oksigen

PBS : *Phospat Buffered Saline*

PUFA : *Polyunsaturated Fatty Acid*

ROS : *Reactive Oxygene Species*

RNS : *Nitrogen Reactive Species*

R[•] : *Peroksil*

ROO[•] : *Peroxyl Radikal*

SSP : *Sistem Saraf Pusat*

SOD : *Super Okside Dismutase*



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Infertilitas merupakan masalah yang sering dihadapi banyak pasangan suami istri. Masalah ini dapat diartikan sebagai suatu ketidakmampuan untuk hamil setelah melakukan hubungan seksual secara teratur dan tanpa perlindungan alat kontrasepsi apapun selama 12 bulan (Ombelet *et al.*, 2008). Kumar *et al.*, 2013 mengatakan ada sekitar 60-80 juta pasangan mengalami infertilitas. Diantara pasangan yang mengalami masalah infertilitas, sebanyak 65% disebabkan oleh faktor istri, 20% faktor suami dan 15% faktor lain yang belum diketahui (Beckmann *et al.*, 2010).

Roupa *et al.*, 2009 mengatakan bahwa penyebab infertilitas pada wanita usia subur adalah faktor tuba fallopi (27,4%), gangguan menstruasi (20%), masalah pada uterus (9,1%), faktor ovarium (3,6%), kelainan seksual (2,7%) dan tidak ketahui (24,5%).

Beberapa faktor penyebab infertilitas diantaranya fisik, psikologi dan lingkungan. Faktor lingkungan yang berpengaruh meliputi polusi pada air atau udara, bahan kimia pabrik, pestisida, merokok, alkohol serta penggunaan obat-obatan (Indrayani, 2011). Salah satu pestisida yang sering digunakan yakni sipermetrin. Pestisida jenis ini banyak digunakan karena harganya yang relatif murah dan efektif dalam membunuh serangga atau hama (Pradani E.Y *et al.*, 2011).

Sipermetrin merupakan golongan pestisida jenis insektisida sintesis piretroid tipe II yang memiliki spektrum luas. Piretroid merupakan senyawa lipofilik. Di Indonesia, pada umumnya penggunaan sipermetrin digunakan untuk pengendalian hama atau serangga bagi buah dan sayuran, serta untuk obat nyamuk semprot rumahan. Terdeteksi kadar residu sipermetrin yang terdapat

pada produk ikan mayung jambal roti di Lamongan sebesar 0.027 – 2.124 mg/kg (Amir *et al*, 2015). Indrayanti (2017) mengatakan sipermetrin 20 mg/kgBB pada tikus, dapat memberikan pengaruh pada penurunan ekspresi Bcl-2 sel granulosa dan penurunan jumlah folikel antral pada ovarium. Dari beberapa temuan diatas, diketahui bahwa residu dari sipermetrin telah melewati ambang batas normal residu pestisida, yakni sesuai dengan SNI 7313:2008, batas maksimum residu sipermetrin yaitu 0.05 mg/kg (BSN., 2008).

Pemberian sipermetrin secara oral dengan dosis 1,38, 2,76 dan 5,52 mg/kgBB pada tikus betina selama dua periode (6 minggu dan 12 minggu), menyebabkan penurunan yang signifikan berat tuba fallopi pada kelompok 6 minggu dosis tinggi dan pada kelompok 12 minggu dosis tengah dan tinggi dibandingkan dengan kontrol. Tikus pada semua kelompok 6 minggu menunjukkan kesuburan 100%, sebanyak 80% dalam dosis rendah dan menengah serta sebanyak 60% dalam perawatan dosis tinggi setelah 12 minggu. Tingkat kesuburan dinilai dari periode kehamilan, jumlah janin dan berat janin (Al-Hamdania dan Yajurvedi, 2017)

Residu sipermetrin yang menempel pada sayur dan buah, dapat masuk ke dalam tubuh manusia bersamaan dengan buah dan sayur yang dimakan. Buah dan sayur tersebut tidak dicuci dengan benar atau dikonsumsi secara mentah. Residu tersebut tidak terurai alami, dapat mengendap selama puluhan tahun di dalam tubuh dan sangat berbahaya. Kondisi demikian dapat merusak sel-sel yang menyusun tubuh melalui sistem syaraf dan peredaran darah (Halim B, 2017).

Otak dianggap sangat rentan terhadap stres oksidatif dibandingkan organ tubuh yang lain. Hal ini terjadi karena otak mengonsumsi oksigen dalam jumlah yang tinggi. Selain itu otak banyak mengandung asam lemak tak jenuh ganda dan memiliki kadar enzim antioksidan endogen yang rendah. Sipermetrin

dilaporkan dapat menyeberang sawar otak. Kehadiran asam lemak tak jenuh ganda di otak dan sifat alami sipermetrin yang lipofilik memungkinkan menjadikan alasan banyaknya bahan kimia ini terakumulasi di otak, sehingga dapat mempengaruhi fungsi dari hipotalamus (Sharma et.al., 2014).

Gangguan pada hipotalamus akan mempengaruhi produksi GnRH, selanjutnya akan mengganggu produksi FSH dan LH. Hal tersebut akan mengakibatkan gangguan pada proses folikulogenesis dan menyebabkan penurunan produksi hormon estrogen. Hormon estrogen yang masuk kedalam sel akan berikatan dengan reseptor estrogen, sehingga mengakibatkan reseptor estrogen menjadi aktif (McDonnel & Norris, 2002).

Reseptor estrogen terdapat di pembuluh darah, organ reproduksi, vesika urinaria, paru, otak dan tulang. Tipe reseptor estrogen ada dua, yakni: reseptor estrogen α (ER- α) dan reseptor estrogen β (ER- β) (Bulun et al., 2010). Hasil penelitian Shao et al., (2007) menyampaikan bahwa ER- α terdeteksi pada sel epitel bersilia, sekretori dan sel otot polos tuba fallopi. Salah satu hormon yang mempengaruhi fungsi tuba fallopi yakni estrogen. Proliferasi yang terjadi pada sel epitel mukosa tuba fallopi terjadi karena pengaruh dari estrogen. Hal tersebut dapat membantu transportasi ovum ke uterus (Guyton et al., 2016).

Tuba fallopi memiliki peran yang penting dalam transportasi gamet dan embrio. Tuba berfungsi dalam menangkap ovum saat fase ovulasi terjadi, lalu mengantarkan ovum bertemu dengan sperma hingga terjadi konsepsi. Hasil konsepsi berupa embrio diantarkan menuju ke uterus (Lyons et al.2006). Fungsi tuba fallopi tersebut dipengaruhi oleh tiga faktor yaitu motilitas tuba, sillia tuba dan cairan tuba.

Sel target sipermetrin diantaranya adalah otak, hati, syaraf dan organ reproduksi. Didalam sel target Sipermetrin mengalami metabolisme yang dibantu oleh sitokrom p450. Dalam proses metabolisme tersebut menghasilkan 3

phenobenzoid acid (3-PBCOH) dalam jumlah yang tinggi, sehingga menyebabkan radikal bebas. Dalam Gupta *et al.*, (2008) Radikal bebas memiliki peran yang penting dalam mempengaruhi fungsi tuba fallopi. Radikal bebas di tuba fallopi dapat menyebabkan sel mengalami apoptosis yang dapat memicu kegagalan implantasi, kehamilan ektopik, endometriosis, hydrosalpinx, dan ovarium polikistik hingga mengakibatkan infertil (Umami *et al.*, 2014).

Dalam menetralkan radikal bebas diperlukan antioksidan. Bahan alami yang relatif aman dan telah banyak digunakan adalah Teh hijau (*Camellia sinensis*) (Anindita *et al.*, 2012). Teh hijau mengandung senyawa polifenol yang tinggi, yaitu sekitar 30-40%, yang sebagian besar adalah katekin. Dalam kondisi setelah pengolahan, senyawa katekin dalam teh hijau jumlahnya paling besar bila dibandingkan dengan teh yang lain, yakni sebesar 10,04% sedangkan teh olong sebesar 9,49% dan teh hitam 5,91% (Anjarsari, 2016).

Syah, 2006 mengatakan katekin sebagai antioksidan lebih kuat 25x dibandingkan dengan vitamin E dan 100x bila dibandingkan dengan vitamin C. Jenis katekin yang terdapat dalam teh hijau antara lain epikatekin (EC), Epikatekin Galat (ECG), Epigallokatekin (EGC), Epigallokatekin Galat (EGCG) (Anjarsari, 2016). Mitrowihardjo, 2012 menyatakan senyawa katekin tersebut mempunyai manfaat karena sifatnya dalam menghilangkan bau dan sebagai antioksidan.

Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti tertarik ingin mengetahui pengaruh ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) pada ekspresi reseptor estrogen alpha (ER- α) dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus betina galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sipermetrin.

1.2. Rumusan Masalah

“Apakah pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat mencegah penurunan ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus betina galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sipermetrin?”

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk membuktikan bahwa ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat mencegah penurunan ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus betina galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sipermetrin.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat mencegah penurunan ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus betina galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sipermetrin.
2. Mengetahui hubungan antara dosis pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus betina galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sipermetrin.
3. Mengetahui hubungan antara ekspresi ER- α dengan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus betina galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sipermetrin.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Menambah pengetahuan mengenai dampak negatif penggunaan sipermetrin terhadap organ reproduksi, dan memberikan bukti ilmiah mengenai teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai antioksidan pada organ reproduksi.

1.4.2. Manfaat Praktis

Penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai dampak negatif dari sipermetrin dan penggunaan teh hijau (*Camellia sinensis*) sebagai antioksidan.

Melalui informasi yang cukup, diharapkan masyarakat lebih berhati-hati dalam menggunakan produk yang mengandung sipermetrin, serta dapat memilih bahan alami sebagai upaya untuk mencegah efek negatif dari sipermetrin diantaranya yakni dengan penggunaan teh hijau.



BAB 2**TINJAUAN PUSTAKA****2.1. Infertilitas****2.1.1. Definisi Infertil**

Infertilitas adalah ketidakmampuan untuk hamil dan melahirkan anak setelah sekurang-kurangnya setelah satu tahun melakukan hubungan seksual secara teratur tanpa perlindungan (Bobak *et al*, 2004).

Infertilitas diklasifikasikan menjadi dua yaitu: infertilitas primer dan infertilitas sekunder. Infertilitas primer jika sebelumnya pasangan suami istri belum pernah mengalami kehamilan sedangkan infertilitas sekunder jika pasangan suami istri gagal untuk memperoleh kehamilan setelah satu tahun pasca persalinan atau pasca abortus tanpa menggunakan alat kontrasepsi apapun. Infertilitas dapat disebabkan oleh pihak istri maupun suami (Prawirohardjo, 2011).

2.1.2. Epidemiologi Infertilitas

Kumar *et al.*, 2013 mengatakan ada sekitar 60-80 juta pasangan mengalami infertilitas. Berdasarkan WHO, secara global ada sekitar 8-10 % pasangan mengalami infertilitas atau sekitar 50-80 juta pasangan, di Amerika sekitar 5 juta pasangan mengalami ketidaksuburan, sedangkan di Eropa diperkirakan jumlahnya mencapai 14% (Roupa *et.al.*,2009). Di Indonesia diperkirakan ada 50 juta pasangan atau sekitar 15-20 % pasangan yang mengalami infertilitas.

2.1.3. Faktor penyebab infertilitas pada wanita yaitu :

1. Gangguan ovulasi

Gangguan ovulasi sekitar 30-40% dari seluruh kasus infertilitas pada wanita. Gangguan ini umumnya sangat mudah didiagnosis menjadi penyebab infertilitas. Karena ovulasi sangat berperan dalam konsepsi, ovulasi harus dicatat sebagai bagian dari penilaian dasar pasangan infertil. Terjadinya anovulasi dapat disebabkan tidak ada atau sedikitnya produksi gonadotropin releasing hormon (GnRH) oleh hipotalamus (40%), sekresi hormon prolaktin oleh tumor hipofisis (20%), PCOS (30%), kegagalan ovarium dini (10%) (Wiweko, 2013).

2. Kelainan Anatomis

Kelainan anatomis yang sering ditemukan berhubungan dengan infertilitas adalah abnormalitas tuba fallopii dan peritoneum, faktor serviks, serta faktor uterus (Wiweko, 2013).

3. Infertilitas yang tidak dapat dijelaskan (*Unexplained Infertility*)

Infertilitas yang tidak dapat dijelaskan merupakan keadaan kurang normal dari distribusi efisiensi reproduksi atau abnormal dari fungsi sperma atau oosit, fertilisasi, implantasi, atau perkembangan preembrio yang tidak dapat terdeteksi dengan metode evaluasi standard. Unexplained Infertility dapat diartikan sebagai ketidakmampuan untuk hamil setelah 1 tahun tanpa ditemukannya suatu abnormalitas menggunakan prosedur pemeriksaan ginekologis rutin. Insidensi infertilitas ini berkisar dari 10% sampai paling tinggi 30% di antara populasi infertil, tergantung dari kriteria diagnostik yang digunakan (Wiweko, 2013).

4. Faktor gaya hidup dan lingkungan

Gaya hidup dan faktor lingkungan dapat mempengaruhi fertilitas dan harus dipertimbangkan. Abnormalitas dari sekresi GnRH dan gonadotropin relatif sering

pada berat badan lebih, obesitas dan yang berat badan kurang (BMI kurang dari 17). Frekuensi obesitas pada wanita dengan anovulasi dan suatu ovarium polikistik telah dilaporkan adalah berkisar dari 35% hingga 60%. Paparan radiasi dalam dosis tinggi, asap rokok, gas anastesi, zat kimia, dan pestisida dapat menyebabkan toxic pada seluruh bagian tubuh termasuk organ reproduksi yang akan mempengaruhi kesuburan (Wiweko, 2013).

2.1.4. Patofisiologi Infertilitas

Beberapa penyebab dari gangguan infertilitas dari wanita diantaranya gangguan stimulasi hipofisis hipotalamus yang mengakibatkan pembentukan FSH dan LH tidak adekuat sehingga terjadi gangguan dalam pembentukan folikel di ovarium (Molavi *et al.*, 2014). Penyebab lain yaitu radiasi dan toksik yang mengakibatkan gangguan pada ovulasi. Gangguan bentuk anatomi sistem reproduksi juga penyebab mayor dari infertilitas, diantaranya cedera tuba dan perlekatan tuba sehingga ovum tidak dapat lewat dan tidak terjadi fertilisasi dari ovum dan sperma. Kelainan bentuk uterus menyebabkan hasil konsepsi tidak berkembang normal walaupun sebelumnya terjadi fertilisasi. Abnormalitas ovarium mempengaruhi pembentukan folikel. Abnormalitas servik mempengaruhi proses pemasukan sperma. Faktor lain yang mempengaruhi infertilitas adalah aberasi genetik yang menyebabkan kromosom seks tidak berkembang dengan baik (Wiweko, 2013). Beberapa infeksi menyebabkan infertilitas dengan melibatkan reaksi imun sehingga terjadi gangguan interaksi sperma sehingga sperma tidak bisa bertahan, infeksi juga menyebabkan inflamasi zigot yang berujung pada abortus (Beckmann *et.al.*, 2010).

2.1.5. Diagnosa Infertilitas

Penyelidikan terhadap infertilitas biasanya segera dilakukan ketika ada pasangan untuk berkonsultasi pertama kalinya. Jika pasangan telah melakukan

usaha untuk memperoleh kehamilan selama kurang dari 1 tahun, maka akan dianamnese beberapa pertanyaan guna memastikan permasalahan utama, pertanyaan yang dapat diajukan antara lain mengenai ketidakteraturan siklus menstruasi, riwayat adanya bedah pelvis, atau orkidopeksi yang tidak bisa dihindari. Jika riwayat medis pasangan hasilnya normal, maka pasien harus diberi penjelasan mengenai harapan peluang kehamilan kumulatif selama satu periode waktu dan pemeriksaan lebih lanjut sebaiknya ditunda sampai pasangan telah mencobanya selama periode satu tahun (Wiweko, 2013).

Pemeriksaan pada infertilitas dapat dilakukan melalui: pemeriksaan riwayat infertilitas (anamnesis), pemeriksaan fisik, penilaian ovulasi, uji pasca senggama, histerosalpingografi (HSG), laparoskopi (Wiweko, 2013).

2.1.6. Terapi Infertilitas

Penanganan infertilitas harus dilakukan sesuai dengan faktor penyebabnya. Diantaranya adalah gangguan ovulasi, endometriosis dan oklusi tuba fallopi merupakan penyebab utama faktor perempuan sedangkan faktor sperma terutama terkait jumlah dan motilitasnya. Karena itu untuk mengetahui penyebab infertilitas perlu dilakukan anamnesis dan pemeriksaan yang terarah.

Penanganan infertilitas pada prinsipnya didasarkan atas 2 hal yaitu mengatasi faktor penyebab / etiologi dan meningkatkan peluang untuk hamil.

Tindakan untuk mengatasi faktor penyebab infertilitas misalnya adalah dengan melakukan induksi ovulasi (pada kasus anovulasi), reanastomosis tuba (oklusi tuba fallopii) dan pemberian obat-obatan secara terbatas pada kasus faktor sperma. Namun seringkali tindakan mengatasi faktor penyebab memberikan hasil yang tidak efektif, oleh karena itu berbagai metoda dikembangkan untuk meningkatkan peluang satu pasangan mendapatkan kehamilan, seperti stimulasi ovarium, inseminasi dan fertilisasi *in vitro* (Wiweko, 2013).

2.2. Reseptor Estrogen

Estrogen dapat berfungsi jika berikatan dengan reseptornya, reseptor estrogen terdapat di dalam sel. Gen reseptor estrogen bertugas mengkode protein yang berfungsi sebagai reseptor estrogen, yaitu ligan mengaktivasi faktor transkripsi beberapa domain penting sebagai tempat berikatan dengan hormon. Baik estrogen maupun reseptornya merupakan faktor penting dalam pertumbuhan dan fungsi dari organ reproduksi (Gruber *et al.*, 2002).

Untuk dapat berikatan dengan reseptornya, estrogen harus menembus permukaan sel dan masuk ke dalam sel (sitoplasma) kemudian berikatan dengan reseptor estrogen di sitoplasma dan membentuk ikatan hormon reseptor pada Estrogen Responsive Element yang kemudian bergerak menuju inti sel untuk berikatan dengan DNA. (Speroff & Fritz, 2005).

Reseptor dari hormon estrogen ada dua macam yaitu: ER- α dan ER- β . Keduanya dapat terekspresi bila berikatan dengan estrogen. Reseptor estrogen terdapat di pembuluh darah, organ reproduksi, vesika urinaria, paru, otak dan tulang. Reseptor tersebut memungkinkan terjadinya efek langsung pada pembuluh darah, baik pada sel otot maupun pada sel endotel. ER- α lebih banyak ditemukan pada endometrium, payudara, jaringan hipotalamus dan stroma ovarium, uterus, tuba fallopi, ginjal, hati dan jantung sedangkan ER- β banyak ditemukan pada ovarium, mukosa intestinal, parenchyma, paru, sumsum tulang, tulang, sistem hemopoietic, sistem saraf pusat, sel endothelial dan kelenjar prostat. (Gruber *et al.*, 2002; Ganong, 2010).

ER- α terekspresi paling banyak pada organ reproduksi wanita. Salah satunya pada tuba fallopi. Selama siklus menstruasi ekspresi ER- α dan ER- β menurun pada fase sekresi akhir dibandingkan dengan fase proliferasi. (Gruber *et al.*, 2002).

Penelitian yang dilakukan oleh Respatiningrum (2017), menyebutkan bahwa paparan sipermetrin dosis 10, 15 dan 20 mg/KgBB berpengaruh terhadap ketebalan endometrium. Penurunan tersebut menunjukkan adanya aktivitas estrogenik. Sipermetrin memiliki similar moiety dengan hormon reproduksi dan dapat berinteraksi dengan reseptor melalui pengikatan dengan residu asam amino pada *binding site* reseptor. Kemiripan struktur sipermetrin dengan estrogen mengakibatkan reseptor estrogen *non active* sehingga signal transduksi untuk efek proliferasi menjadi terhambat (McCarthy, *et.al.* 2006).

2.3. Tuba Fallopi

Ovarium dihubungkan dengan tubular atau tuba fallopii (seromuscular) yang bentuknya seperti tabung, pada manusia masing-masing panjangnya ± 10 cm dengan diameter bervariasi pada setiap bagian tuba, yaitu pars interstitialis 1 mm, pars istmika tubae 2,5 mm sedangkan pars ampula serta pars infundibulum dengan fimbriae masing-masing 6 mm. Dinding tuba terdiri dari 3 lapisan yaitu mukosa, muskularis, dan serosa.

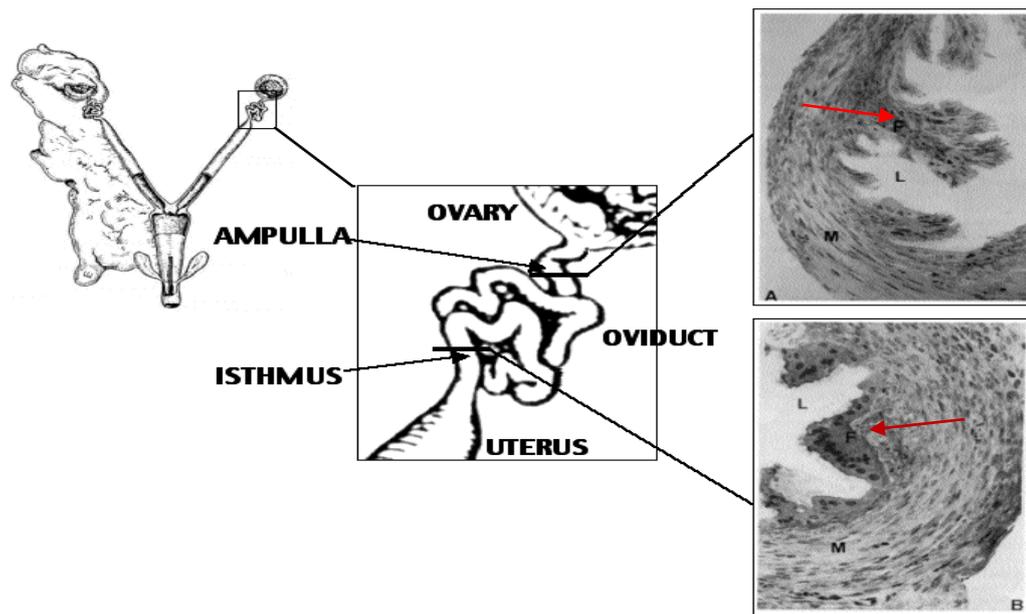
Tuba fallopii memiliki fungsi untuk menangkap ovum saat ovulasi, lalu mengantarkan ovum untuk bertemu dengan sperma sampai terjadinya konsepsi. Fungsi tersebut dipengaruhi oleh pergerakan epitel tuba oleh otot polos, jumlah epitel bersilia dan epitel sekretorik tuba (Lyons, *et al.* 2006). Dalam Yesdelita (2010) menyebutkan bahwa sekresi oleh uterus akan menyebabkan sperma bertahan dengan baik didalam tuba dan memungkinkan akan mengalami kapasitas yaitu suatu proses biokimiawi yang sangat kompleks untuk membuahi oosit.

Lapisan pertama adalah mukosa, pada lapisan ini terdapat beberapa jenis sel yang berbeda yaitu sel epitel silindris bersilia (25%), sel sekretorik (60%), dan sel peg narrow (<10%). Mukosa ini memiliki banyak lipatan yang disebut plicae, paling banyak terdapat dalam ampula. Pada lapisan mukosa terdapat dua

macam sel epitel yang berbeda, yakni sel yang memiliki silia yang aktif bergetar menjelang oosit lewat, tipe sel ini menjamin kelancaran transport oosit embrio menuju uterus, yang kedua adalah sel tanpa silia banyak mengandung butir sekret/ cairan didalamnya, diduga menghasilkan sekret yang bersifat nutritif bagi embrio, aktivitas epitel ini ternyata sejalan dengan aktivitas seluruh saluran reproduksi meskipun tidak sebaik uterus. Lamina propria terdiri atas jaringan ikat longgar dengan banyak sel dan serabut retikuler. Serabut otot polos sering tampak didalamnya. 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, sel epitel ini menunjukkan perubahan berdasarkan siklus follikuler sesuai fasenya yaitu akan terlihat tinggi selama fase follikuler karena kadar estrogen darah tinggi dan menjadi rendah pada saat luteal akhir. Sel sekretorik tuba yang berisi cairan nutritif banyak mengandung mukoproteins, elektrolit dan enzim yang diduga berasal dari transudasi selektif darah dan sekresi aktif dari lapisan epitel, cairan tersebut akan meningkat pada saat fase proestrus (El-Mowafi, 2012).

Lapisan kedua adalah muskularis, yang merupakan lapisan otot polos yang mengelilingi mukosa, keduanya dibatasi oleh lapisan jaringan ikat yang sangat tipis yaitu otot polos sirkuler sebelah dalam dan otot polos longitudinal sebelah luar, lapisan otot polos ini semakin menebal pada tuba yang menuju ke uterus, kontraksi otot polos ini akan menghasilkan gerakan peristaltik yang berfungsi untuk membantu perpindahan ovum menuju rahim, diantara keduanya terdapat jaringan ikat yang mengandung pembuluh darah yang dikenal sebagai stratum vaskulare, pada bibir infundibulum atau fimbriae otot polos hampir tidak tampak atau hanya soliter. Semakin menuju uterus lapisan otot polos semakin jelas bahkan membentuk dua lapis yang berbeda susunannya, tunika muskularis dengan gerakan peristaltiknya bertugas mendorong oosit atau embrio menuju

uterus. Gerakan peristaltik ini dipengaruhi oleh tiga sistem intrinsik yaitu hormon estrogen-progesteron, sistem adrenergik-non adrenergik dan hormon prostaglandin. Hormon estrogen dapat merangsang motilitas tuba sedangkan progesteron menghambat motilitas tuba (El-Mowafi, 2012). Lapisan ketiga adalah serosa sebagai lapisan terluar atau terusan dari selaput peritoneum yang terdiri dari jaringan ikat (Almeida, 2001).



Gambar 2.1 Histologi tuba fallopi tikus

Keterangan: Ampulla (A), Isthmica (B). Muskuler (M), Mukosa (F) dan Lumen (L). (Croxato, HB. 2002. Physiology Of Gamete And Embryo Transport Through The Fallopian Tube. Facultad de Ciencias Biologicas.)

2.4. Sipermetrin

2.4.1. Sipermetrin

Sipermetrin adalah kelompok insektisida golongan piretroid sintetik.

Piretroid merupakan insektisida alami yang berasal dari ekstrak bunga

Chrysanthemum Phyretrum. Piretroid alami cukup mahal dan tidak stabil bila

terkena cahaya matahari, sehingga dibuatlah piretroid sintetik. Sipermetrin

merupakan piretroid generasi kedua yang memiliki spektrum yang luas,

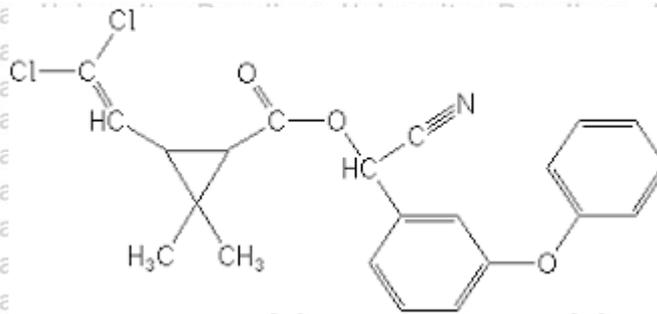
toksitas yang tinggi pada serangga dan ikan (Sun *et al.*, 2014).

Insektisida ini sudah mulai dikenal sejak tahun 1970 dan berkembang sangat cepat. Insektisida golongan ini banyak dipilih karena harganya yang murah dan spektrumnya yang luas. Sipermetrin merupakan insektisida sintesis piretroid yang mempunyai efek racun perut dan racun kontak. Banyak digunakan petani sebagai pestisida tanaman buah atau sayur dan merupakan salah satu bahan aktif yang digunakan dalam formulasi obat nyamuk aerosol. Batas minimal *risk level* (MRLs) sipermetrin per oral adalah 0,02 mg/kg/day (ATSDR, 2006).

Nama dagang dari sipermetrin antara lain Ripcord 10 EC, Cymbush 25 EC dan Barricade. Sipermetrin berwujud cairan kental, berbau menyengat, rela tidak menguap, stabil terhadap panas, dan larut dalam pelarut non polar (aseton, alkohol, xylene, dan khloroform), serta mempunyai kelarutan yang rendah dalam air (0,009 ppm) (Haryati, 2006)

Keterangan fisiologis bahan kimia:

Nama	:	alpha-cyano-3-phenoxybenzyl ester of 2,2-dimethyl-3-(2,2-dichlorovinyl)-2-cyclopropane carboxylic acid
Rumus Kimia	:	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃
Berat Molekul	:	416,3 g/Mol
Massa Jenis	:	1.204 g/mL pada 25 EC
Titik Lebur	:	60-80 °C
Titik Didih	:	216 °C
Tekanan Uap	:	3.1E-9 mm Hg pada 20°C
Kelarutan Air	:	7.6 ppb pada 25°C
Warna	:	Coklat kekuningan
zat aktif insektisida	:	senyawa sianida



Gambar 2.2. Struktur Kimia Sipermetrin (USEPA, 2006)

Pada mamalia, sipermetrin terakumulasi dalam lemak tubuh, kulit, hati, ginjal, kelenjar adrenal, ovarium, paru-paru, darah dan jantung. Sipermetrin bersifat toksik, pada mamalia efek utama yang ditimbulkan adalah menghambat *asetilkolinesterase* yang menyebabkan aktifitas kolinerjik yang berlebihan, perangsangan reseptor kolinerjik secara terus menerus akibat penumpukan asetilkolin yang tidak dihidrolisis. Penghambatan *asetilkolinesterase* juga menimbulkan polineuropati (neurotoksisitas) mulai terbakar sampai kesemutan, terutama di kaki akibatnya kesukaran sensorik dan motorik dapat meluas ketungkai dan tangan (terjadi ataksia). Penggunaan pada tanaman, sipermetrin pada sayuran dapat menyebabkan akumulasi residu dalam organ tanaman dan dapat mempengaruhi konsumen (Adjrah *et al.*, 2013).

2.4.2. Efek Sipermetrin Pada Reproduksi

Berdasarkan beberapa penelitian, efek sipermetrin pada sistem reproduksi yang merugikan antara lain, penurunan jumlah sperma pada tikus, penurunan jumlah situs implantasi, jumlah janin yang hidup dan berat badan janin pada kelinci (Al-Hamdani *et al.*, 2010). Paparan sipermetrin pada hewan laboratorium bunting dapat mempengaruhi keturunan mereka. Beberapa kelainan organ dan tulang otot juga telah diamati pada keturunan kelinci bunting yang dipapar sipermetrin (Ullah *et al.*, 2006). Pemberian sipermetrin per oral

dengan dosis 50mg/kg mengakibatkan atresia folikel dan laporan lainnya menunjukkan bahwa adanya penurunan pada kadar serum estradiol dan progesteron pada tikus yang dipapara sipermetrin (Molavi *et.al.*,2014).

Pemberian sipermetrin secara oral dengan 1,38, 2,76 dan 5,52 mg/kgBB pada tikus betina selama dua periode (6 minggu dan 12 minggu), menyebabkan penurunan yang signifikan dalam jumlah siklus estrus per bulan, kadar serum estradiol, jumlah folikel ovarium yang sehat dan jumlah corpora lutea serta penurunan yang signifikan berat tuba fallopi pada kelompok 6 minggu dosis tinggi dan pada kelompok 12 minggu dosis tengah dan tinggi sedangkan ada peningkatan jumlah folikel atretik dari semua kategori dibandingkan dengan kontrol. Tikus pada semua kelompok yang dirawat setelah 6 minggu pengobatan menunjukkan kesuburan 100%, sebanyak 80% dalam dosis rendah dan menengah serta sebanyak 60% dalam perawatan dosis tinggi setelah 12 minggu. Tingkat kesuburan dinilai dari periode kehamilan, jumlah janin dan berat janin (Al-Hamdania dan Yajurvedi, 2017)

2.4.3. Farmakokinetik Sipermetrin

Rute paparan sipermetrin pada mamalia berbeda dibandingkan serangga. Sipermetrin merupakan piretroid yang memiliki jalur metabolisme mamalia sejenis, sehingga memiliki kesamaan pada metabolisme dari 17 β -estradiol (McCarthy, *et.al.*, 2006).

2.4.3.1. Absorpsi

Sipermetrin yang merupakan golongan piretroid generasi II diserap dari saluran pencernaan. Piretroid merupakan senyawa lipofilik, mereka menyebrangi sel-sel usus dan masuk ke sirkulasi oleh difusi melintasi membran lipid sel. Diduga sebgaiian besar penyerapan terjadi di usus. Penyerapan piretroid tipe II pada pemberian oral telah ditunjukkan oleh adanya senyawa piretroid dalam

plasma, urin, feses dan susu (ATSDR, 2003). Bradberry *et.al.*, 2005 menyatakan sekitar 19-57 % sipermetrin per oral dapat diserap.

2.4.3.2. Distribusi

Piretroid didistribusikan secara luas dan cepat pada jaringan dengan kandungan lipid yang tinggi, termasuk lemak dan jaringan saraf pusat dan perifer, karena sifatnya yang lipofilik. Penelitian pada beberapa species mamalia mengkonfirmasi bahwa piretroid secara luas dan cepat didistribusikan ke banyak jaringan termasuk hati dan ginjal, dan terkonsentrasi di jaringan saraf pusat dan perifer. Konsentrasi dalam jaringan saraf yang tinggi di saraf sciatic, diikuti hipotalamus, korteks frontal, hippocampus, otak kecil dan medulla oblongata (ATSDR,2003).

2.4.3.3. Metabolisme

Sipermetrin dimetabolisme melalui pembelahan hidrolitik ester dan jalur oksidatif oleh enzim CYP-450 (Sanker *et.al.*, 2010). Metabolisme sipermetrin sangat mirip dengan semua species yang terlibat dalam pembelahan ikatan ester untuk membentuk asam *phenoxybenzoic* (PBA) dan derivat asam *cyclopropanecarboxylic* yang diekskresikan sebagai konjugat (Mc Carthy A.R, *et.al.*, 2006). Pembelahan hidrolitik dari ikatan ester diikuti oleh oksidasi yang menghasilkan *3-hidroksi phenobenzoic* (3-PBCOH) (Mc Carthy, *et.al.*, 2006). Metabolit ini kemudian umumnya dimetabolisme lebih lanjut dan membentuk produk terkonjugasi dengan senyawa seperti glisin, sulfat, dan asam glukuronat (ATSDR, 2003)

2.4.3.4. Ekskresi

Pada manusia yang terpapar dosis tunggal piretroid tipe II, ekskresi berdasarkan metabolit dalam urin diperkirakan 6 dan 13 jam. Sekitar 35-50% dari

dosis diekskresikan dalam urin sebagai metabolit selama 5 hari pertama setelah pemberian, dengan puncak ekskresi urin diamati selama 24 jam pertama setelah pemberian dosis (ATSDR, 2003).

Eliminasi piretroid yang telah dilakukan pada tikus menunjukkan 90% dari dosis dieliminasi dalam 24 jam sampai 48 jam, diikuti dengan tingkat yang lebih lambat untuk sisa 10% selama periode minggu (Bradbury dan Coats, 1989).

2.4.4. Mekanisme Toksisitas

2.2.4.1. Sipermetrin sebagai *Estrogenic Endocrine Disruptors*

Piretroid tipe II termasuk sipermetrin memiliki *similar moiety* dengan hormon reproduksi, yaitu hormon esterogen. Karena kondisi tersebut menyebabkan bahan kimia ini dianggap sebagai *endocrine disruptors*, yang didefinisikan sebagai “agen eksogen” yang mengganggu produksi, rilis, transportasi, metabolisme, mengikat, aksi atau penghapusan hormon alami dalam tubuh yang berfungsi sebagai homeostasis, reproduksi dan regulasi proses perkembangan. Sipermetrin bertanggung jawab pada gangguan endokrin dengan jalur yang berbeda di beberapa organisme (Kiyama, *et.al.*, 2015; Jin *et.al.*, 2010).

Bretveld *et.al.*, 2006 mengatakan bahwa salah satu mekanisme gangguan fungsi hormonal wanita yaitu dengan mengikat reseptor hormon.

Hormon yang berikatan dengan reseptor, berfungsi untuk menafsirkan pesan.

Hanya hormon tertentu yang dapat mengikat reseptor yang khusus. Sejumlah agen lingkungan dapat mengubah proses dengan meniru hormon alami (*mimicry*) atau dengan menghambat reseptor (antagonis), kondisi demikian terjadi bila pengganggu endokrin dalam konsentrasi tinggi.

Mekanisme lain yang mungkin adalah gangguan pada sistem saraf pusat (SSP). SSP sangat penting dalam integrasi aktivitas dan perilaku hormonal. Gangguan dalam mekanisme ini dapat mengganggu fungsi dan kerja endokrin dalam menghasilkan hormon. Sejak diketahui bahwa *sipermetrin* neurotoksik, maka dapat diketahui bahwa bahan kimia ini dapat merusak aktivitas SSP dan fungsi sel otak. Serta dapat mengubah fungsi hipotalamus dan hipofise (Bretveld *et.al.*, 2006).

2.2.4.2. Sipermetrin Memicu Radikal Bebas dan Stres Oksidatif

Sipermetrin dimetabolisme melalui pembelahan hidrolitik ester dan jalur oksidatif oleh enzim CYP-450 sehingga menghasilkan radikal bebas yang dapat menyebabkan radikal bebas dan bertanggung jawab terhadap pada stres oksidatif. Radikal bebas yang terus-menerus dapat menyebabkan kerusakan lipid, protein dan DNA dalam sel hingga akhirnya menyebabkan kematian sel. Beberapa studi telah menunjukkan bahwa sipermetrin merusak otak, hati, ginjal, eritrosit melalui stres oksidatif (Sankar *et.al.*, 2010).

Otak dianggap sangat rentan terhadap stres oksidatif dibandingkan organ tubuh yang lain. Hal ini terjadi karena otak mengonsumsi oksigen dalam jumlah yang tinggi. Selain itu otak banyak mengandung asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) dan memiliki kadar enzim antioksidan endogen yang rendah. Sipermetrin dilaporkan dapat menyeberang sawar otak. Kehadiran PUFA di otak dan sifat alami sipermetrin yang lipofilik memungkinkan menjadikan alasan banyaknya bahan kimia ini terakumulasi di otak. Dalam sebuah penelitian, terjadi peningkatan peroksidasi lipid juga dikaitkan dengan penurunan *Glutathione tereduksi* (GSH) dan penurunan antioksidan enzimatik yaitu *superoksida dismutase* (SOD), *Catalase* (CAT) dan *Glutathione Peroksidase* (GPx) (Sharma *et.al.*, 2014).

Hydrogen peroksida (H_2O_2) merupakan oksidan non radikal dan bila bereaksi dengan logam transisi (Fe^{2+}) maka akan berubah menjadi radikal bebas (radikal reaktif hidroksil/reaksi fenton (Muchtadi, 2013)). Radikal hidroksil memisahkan elektron dari asam lemak tak jenuh ganda (RH) dan menimbulkan radikal *carbon centred lipid* ($R\cdot$). *Lipid* radikal yang bereaksi dengan molekul oksigen maka berubah menjadi radikal *lipid* peroksid. Jika radikal *lipid* peroksid tidak direduksi oleh antioksidan maka akan terjadi proses peroksidasi *lipid* (Winarsi, 2007).

Peroksidasi *lipid* dapat menyebabkan kerusakan sel, diantaranya sel otak dan sel tuba fallopi. Kerusakan sel otak dapat mempengaruhi fungsi hipotalamus. Penurunan fungsi hipotalamus menyebabkan produksi FSH juga menurun, sehingga menyebabkan folikulogenesis didalam ovarium terganggu dan berakibat pada penurunan hormon estrogen. Kondisi estrogen yang rendah dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim SOD dan enzim GPx (Muthusami, *et.al*, 2005; Wauquier. *et.al*, 2009).

Peroksidasi *lipid* juga menyebabkan kerusakan pada sel-sel tuba fallopi yaitu pada sel-sel epitel mukosa pada tuba. Kerusakan sel tersebut menyebabkan sel epitel tidak mampu berproliferasi sehingga akan menghambat transportasi ovum untuk bertemu sperma.

2.5. Radikal Bebas, *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) dan Stres Oksidatif

2.5.1. Radikal bebas

Radikal bebas didefinisikan sebagai molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dan umumnya tidak stabil dan sangat reaktif (Fang et al., 2002).

Elektron tidak berpasangan menyebabkan radikal bebas secara kimiawi menjadi sangat aktif. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), negatif (anion), atau tidak bermuatan. Sumber radikal bebas dapat berasal dari proses metabolisme dalam tubuh (internal) dan berasal dari luar tubuh (eksternal). Radikal bebas dari

dalam tubuh yaitu superoksida (O_2^*), hidroksil (OH^*), peroksil (LOO^*), hidrogenperoksida (H_2O_2), *singlet oxygene* ($1O_2$), oksida nitrit (NO^*), dan peroksinitrit ($ONOO^*$). Radikal bebas dari luar tubuh antara lain berasal dari: asap rokok, polusi, radiasi, sinar UV, obat, pestisida, limbah industri, dan ozon (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Radikal bebas pada umumnya mempunyai efek yang sangat menguntungkan, seperti membantu destruksi sel-sel mikroorganisme dan kanker. Akan tetapi, radikal bebas yang berlebihan dan produksi antioksidan yang tidak memadai dapat menyebabkan kerusakan sel-sel jaringan dan enzim-enzim (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Di antara senyawa-senyawa oksigen reaktif, radikal hidroksil (OH^*) merupakan senyawa yang paling berbahaya karena mempunyai tingkat reaktivitas sangat tinggi. Radikal hidroksil dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel yaitu asam lemak tak jenuh yang merupakan komponen penting *fosfolipid* penyusun membran sel, DNA, yang merupakan piranti genetik dari sel, protein, yang memegang berbagai peran penting seperti enzim, reseptor, antibodi, pembentuk matriks, dan sitoskeleton (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Keseimbangan antara manfaat dan efek berbahaya dari radikal bebas adalah aspek yang sangat penting dalam hidup organisme dan dapat dicapai dengan mekanisme yang disebut "regulasi redoks". Proses "regulasi redoks" melindungi hidup organisme dari berbagai stres oksidatif dan menjaga "homeostasis redoks" (Droge, 2002). Oksigen dan nitrogen radikal bebas dapat diubah menjadi spesies lain non-radikal reaktif, seperti hidrogen peroksida, asam hipoklorit ($HOCl$), asam hypobromous ($HOBr$), dan peroxynitrite ($ONOO$) (Evans & Halliwell, 2001).

2.5.2. Stres Oksidatif

Stres oksidatif adalah keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Stres oksidatif dapat berasal dari terjadinya mutasi pada enzim yang berperan sebagai antioksidan sehingga menyebabkan penurunan atau menghilangnya antioksidan dalam tubuh. Stres oksidatif terjadi ketika produksi ROS alamiah tidak dapat diseimbangkan oleh kapasitas antioksidan jaringan sehingga menginduksi kerusakan komponen seluler secara irreversibel dan memicu kerusakan DNA mitokondria, dan peningkatan apoptosis sel, juga kerusakan kompartemen selular lainnya yang berakhir pada produksi radikal bebas yang berlebihan (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Pencegahan stres oksidatif dapat dilakukan melalui 3 tahap, yaitu dengan menurunkan pajanan ke polutan lingkungan yang mengandung oksidan, meningkatkan jumlah antioksidan endogen dan eksogen, dan menurunkan stres oksidatif dengan menstabilkan produksi dan efisiensi energi mitokondria. Stres oksidatif endogen dapat dipengaruhi dengan dua cara, yaitu dengan mencegah formasi radikal bebas atau menghilangkan efek radikal bebas dengan antioksidan (Zalukhu et al, 2016).

2.6. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif, spesies nitrogen, dan radikal bebas lainnya sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskular, kanker dan penuaan. Senyawa antioksidan diperlukan tubuh untuk menghambat radikal bebas dan mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas pada sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai (Halliwell & Gutteridge, 2007).

Enzim antioksidan atau antioksidan endogenous enzimatis adalah SOD, CAT, GPx dan *glutathion reduktase*. SOD adalah protein yang mengandung logam yang mengkatalisis penghapusan superoksida untuk menghasilkan air peroksida sebagai produk akhir dari dismutasi. Tiga isoform SOD terdapat di semua sel eukariotik, yaitu isoform tembaga dan zinc (di sitoplasma, nukleus, plasma) dan isoform mangan terdapat di mitokondria.

Catalase (CAT) mengandung enzim yang mengkonversi hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan O , dan sebagian besar terdapat di organel subselular seperti peroksisom. Mitokondria dan retikulum endoplasma mengandung sedikit CAT, sehingga H_2O_2 intraseluler tidak bisa dihilangkan kecuali berdifusi ke peroksisom.

Glutathione peroxidases (GSH-Px) mengeluarkan H untuk membantu mengurangi oksidasi GSH. GSH-Px juga dapat mengurangi peroksida lain, seperti hidroperoksida asam lemak. Enzim ini terdapat sitoplasma dengan konsentrasi millimolar dan juga terdapat dalam matriks mitokondria (Pacheco & Gonsebatt, 2009).

Mekanisme pertahanan terhadap radikal bebas yang disebabkan oleh kerusakan oksidatif meliputi:

1. Menghapus katalitik akibat radikal bebas dan spesies reaktif oleh faktor-faktor seperti CAT, SOD, peroksidase.
2. Mengikat protein (transferrin, metallothionein, haptoglobin, caeroplasmin) menjadi ion logam pro-oksidan, seperti besi dan tembaga.
3. Perlindungan terhadap kerusakan makromolekul oleh protein karena stres atau *heat shock protein*.
4. Mengurangi radikal bebas dengan donor elektron, seperti GSH, vitamin E (tokoferol), vitamin C (Asam askorbat), bilirubin, dan asam urat (Pacheco & Gonsebatt, 2009).

2.7. Teh Hijau (*Camellia sinensis*)



Gambar 2.3. Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis*)

Teh umumnya tumbuh dengan baik di daerah beriklim tropis atau sub tropis dengan ketinggian 200 sampai 2000 m di atas permukaan laut, dengan suhu kelembapan berkisar antara 14-25 °C. Teh merupakan pohon berdaun hijau dengan tinggi 10-15 meter. Daun berwarna hijau muda dengan panjang 5-30 cm dan lebar sekitar 4 cm. Tanaman ini memiliki bunga yang berwarna putih dengan diameter 2,5-4 cm dan biasanya berdiri sendiri atau saling berpasangan (Soraya, 2007).

Daun teh hasil produksi terbagi atas empat kelompok. Pengelompokan berdasarkan pada proses produksi yaitu teh hijau dan teh putih (tanpa fermentasi), teh oolong (semi-fermentasi) dan teh hitam (dengan fermentasi) (Yin Jie *et al.*, 2012).

2.7.1. Klasifikasi Teh Hijau

Teh hijau berasal dari daun segar atau kering tanpa proses fermentasi. Daun yang diambil merupakan daun dari pucuk, yang hampir berwarna putih.

Teh flush merupakan istilah untuk pucuk muda, yang terdiri dari daun yang masih kuncup dan dua daun yang berdekatan dengan pucuk. Total polifenol pada pucuk terdiri 20% sampai 35%, 60-80% merupakan katekin (Cooper *et al.*, 2005).

Polifenol pada teh hijau memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Aktivitas antioksidan polifenol teh hijau lebih besar dari vitamin C atau E, yang memiliki efek perlindungan terhadap radikal bebas. Polifenol yang diisolasi dari teh hijau

mampu menghambat superoksida radikal (O⁻), hidroksil radikal (OH⁻) dan peroxy radikal (ROO⁻). Kemampuan polifenol dari teh hijau untuk menghambat ROS di semua kompartemen selular, dalam berbagai sel dan kompartemen tubuh yang berbeda sebelum terjadinya kerusakan (Wu Weanbiao, 2013).

Klasifikasi tanaman teh *Camelia sinensis* secara taksonomi sebagai berikut :

Divisi : Magnoliophyta
Sub divisi : Spermatophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub kelas : Dileniidae
Ordo (bangsa) : Theales
Familia (suku) : Camelliaceae (Theaceae)
Genus (marga) : Camellia
Spesies (jenis) : *Camellia sinensis* L.

(Widyaningrum, 2013).

2.7.2. Komposisi Teh Hijau

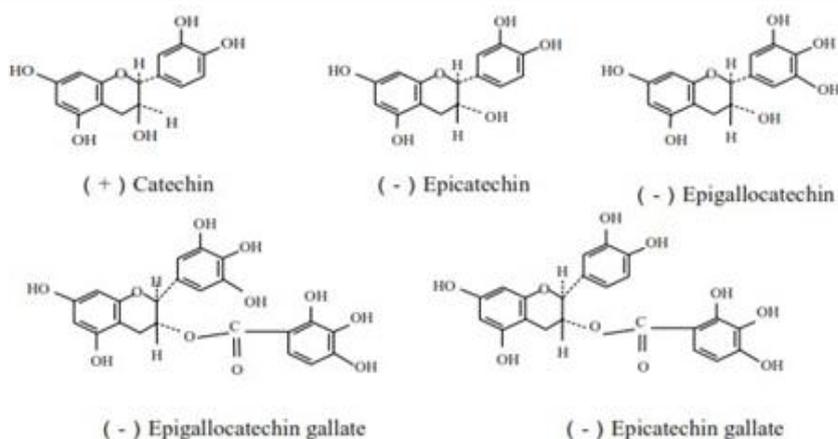
Teh merupakan minuman yang paling banyak dikonsumsi di dunia dan telah menjadi produk pertanian penting karena mempunyai manfaat besar untuk kesehatan manusia, antara lain menurunkan kolesterol, mencegah hipertensi, antioksidan, antimikroba, perlindungan terhadap penyakit kardiovaskuler dan kanker (Zuo *et al.*, 2002).

Pucuk daun muda pada teh mengandung senyawa polifenol golongan katekin, kafein dan asam amino. Total polifenol pada pucuk terdiri dari 20% sampai 35% dari berat kering daun teh, 60-80% merupakan katekin (Cooper *et al.*, 2005). Katekin merupakan salah satu komponen bioaktif teh yang sangat mempengaruhi kualitas warna, aroma dan rasa pahit pada teh yang berfungsi sebagai antioksidan (Effendi *et al.*, 2010). Kadar kafein serta polifenol golongan

katekin akan berkurang jika daun teh semakin tua, sehingga akan mempengaruhi kualitas warna, aroma dan rasa.

Katekin adalah kandungan yang paling penting dari teh hijau meliputi: *Epicatechin* (EC), *Epigallocatechin* (EGC), *Epicatechin gallate* (ECG), *Epigallocatechin gallate* (EGCG). Katekin pada teh hijau adalah yang paling berperan melawan superoksida, hidrogen peroksida, radikal hidroksil, dan asam nitrat yang berasal dari berbagai bahan kimia. Katekin juga berperan membentuk struktur katekol yang melekat pada logam dan menghambat pembentukan radikal bebas. Selain itu, katekin teh hijau memiliki khasiat antioksidan, β -karoten, vitamin C dan E untuk perlindungan sel (Mahmood *et al.*, 2015).

Katekin teh hijau telah dibuktikan merupakan antioksidan yang sangat kuat dan dihubungkan dengan penurunan risiko beberapa penyakit. Beberapa penelitian telah melaporkan efek teh hijau terhadap kesehatan manusia sebagai anti kanker dan efek antimutagenik. Senyawa polifenol yang diekstrak dari daun teh hijau terbukti menjadi antioksidan yang baik terhadap peroksidasi *lipid bilayers fosfolipid* dalam sistem biologi, terhadap tumorigenesis dan kerusakan DNA (Sharpe *et al.*, 2016). Kemampuan katekin teh hijau dalam menghambat radikal bebas seratus kali lebih efektif dibandingkan vitamin C dan dua puluh lima kali lebih efektif dibandingkan dengan vitamin E (Syah, 2006).



Gambar 2.4. Struktur Kimia Kandungan Teh Hijau

Keterangan: Kandungan aktif teh hijau berasal dari senyawa polifenol golongan katekin, yaitu *Epicatechin* (EC), *Epigallocatechin* (EGC), *Epicatechin gallate* (ECG), *Epigallocatechin gallate* (EGCG) (Wu Weanbiao, 2013)

Tabel 2.1. Kandungan Zat Kimia Daun Teh Hijau (Widyaningrum, 2013)

No	Komponen	% Berat kering
1.	Kafein	7,43
2	(-) <i>Epicatechin</i> (EC)	1,923
3	(-) <i>Epicatechin gallate</i> (ECG)	5,20
4	(-) <i>Epigallocatechin</i> (EGC)	8,42
5	(-) <i>Epigallocatechin gallate</i> (EGCG)	20,29
6	Flavonol	2,23
7	Theanin	4,70
8	Asam glutamat	0,50
9	Asam asparat	0,50
10	Arginin	0,74
11	Asam amino lainnya	0,74
12	Gula	6,68
13	Kalium (potasium)	12,13
14	Bahan yang dapat mengendapkan alkohol	3,96

2.7.3. Metode Ekstraksi Maserasi Teh Hijau

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai.

2.7.3.1. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana, dilakukan dengan merendam sampel dalam pelarut organik. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Terdapat perbedaan antara konsentrasi larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang terpekat akan didorong keluar. Kelebihan lain dari metode ekstraksi ini adalah metode dan peralatan yang digunakan sangat sederhana dan mudah didapatkan. Penggunaan metode maserasi untuk ekstraksi teh hijau dinilai tepat karena senyawa yang terdapat pada teh hijau rentan terhadap panas. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi menurut Hukmah (2007) adalah :

a. Bahan yang akan diekstrak sebaiknya mempunyai permukaan yang sangat besar

Hal ini untuk mempermudah kontak antara bahan dengan pelarut sehingga ekstraksi dapat berlangsung dengan baik. Bahan yang akan diekstraksi jangan terlalu halus karena dapat menyebabkan pemampatan.

b. Lama dan suhu ekstraksi

Ekstraksi akan dapat berlangsung dengan cepat jika berada pada suhu yang tinggi, tetapi hal ini juga dapat mengakibatkan beberapa komponen yang terdapat dalam rempah-rempah akan mengalami kerusakan. Ekstraksi yang baik dilakukan pada kisaran suhu 20°C sampai 80°C dan suhu yang digunakan tersebut harus berada dibawah titik didih zat pelarut yang digunakan.

c. Jenis dan konsentrasi pelarut

Ada dua pertimbangan dalam memilih jenis pelarut yaitu : (1) pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan (2) pelarut tidak berbahaya dan tidak beracun. Pelarut yang paling aman adalah etanol. Pelarut yang paling sering digunakan adalah etanol, methanol, aseton, isopropyl, dan alkohol. Secara

umum ekstraksi dilakukan secara berturut-turut mulai dari pelarut non polar (n-heksana) lalu pelarut yang kepolarannya menengah (etilasetat) kemudian pelarut yang bersifat polar (methanol atau etanol) (Hukmah, 2007).

2.7.4. Mekanisme Teh Hijau sebagai Antioksidan

Teh hijau berperan sebagai antioksidan yang sangat baik untuk aktivitas biologis, seperti penghambatan enzim oksidatif, penghambatan faktor transkripsi pada kanker, membersihkan oksigen reaktif dan reduksi logam chelation (Rashidinejad et al., 2016). Teh hijau adalah minuman yang banyak dikonsumsi di seluruh dunia. Selain sebagai antioksidan, manfaat teh hijau juga sebagai antimutagenik dengan cara mengurangi pembentukan kanker dan kerusakan kromosom (Ogaly et al., 2015).

Daun teh mengandung polifenol sebagai komponen utama, yang terdiri dari sekitar 30% sampai 42% dari berat dari berat kering dan sebagian besar adalah katekin. Katekin berperan langsung sebagai penghambat radikal untuk spesies oksigen dan nitrogen reaktif. Secara kimia, semua katekin memiliki beberapa *substituen hydroxyl* yang bertanggung jawab untuk aktivitas antioksidan (Ogaly et al., 2015). Katekin juga memberi efek tidak langsung melalui aktivasi enzim antioksidan (Mandel & Youdim, 2012).

Dalam kondisi normal, tubuh mempunyai sistem antioksidan yang efektif untuk memerangi kelebihan produksi ROS. Namun, dalam keadaan tertentu, keseimbangan antara produksi ROS dan eliminasi terganggu sehingga menyebabkan stres oksidatif (Lushchak, 2011). Kerusakan makromolekul, termasuk protein, lipid, dan asam nukleat, merupakan hasil dari ROS yang berlebih yang diyakini terlibat dalam etiologi banyak gangguan neurodegenerative (Mani et al., 2014).

Tumbuhan dan tanaman obat dianggap menjadi pilihan terapi yang potensial untuk berbagai penyakit, termasuk penyakit neurodegenerative (Khan

et al., 2012). Antioksidan dari sumber alami seperti ekstrak teh hijau mengandung campuran dari beberapa senyawa dengan sifat antioksidan.

Mekanisme kerja teh hijau sebagai antioksidan, yaitu:

1. Antioksidan dan Anti Radikal

Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa katekin dalam teh efektif sebagai anti oksigen reaktif dan spesies nitrogen pada *in vitro*, termasuk *radical superoksida* [O₂⁻], *peroxyl radicals*, *radical hydroxyl*, *singlet oksigen*, *peroxynitrite* [ONOO⁻], asam hipoklorit. Kemampuan senyawa yang bertindak sebagai antiradikal bebas terkait dengan pengurangan satu-elektron potensial, suatu ukuran reaktivitas antioksidan sebagai hidrogen atau donatur elektron dalam kondisi standar. (Frei & Higdon, 2003)

2. Logam *chelation*

Kemampuan polifenol teh pada ion logam *chelation*, seperti besi dan tembaga, dapat berkontribusi untuk aktivitas antioksidan dengan mencegah transisi aktif reduksi logam dari katalis pembentukan radikal bebas. Sifat *chelating* logam kemungkinan besar dapat menjelaskan kemampuan polifenol teh menghambat oksidasi tembaga melalui mediasi LDL dan transisi oksidasi lainnya yang dikatalisis logam pada *in vitro*.

3. Penghambat enzim "prooksidan"

Stimulasi pada sel inflamasi seperti makrofag oleh endotoksin bakteri atau sitokin inflamasi menyebabkan peningkatan ekspresi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) dan produksi Nitrit oksida (NO) dalam jumlah besar. NO bereaksi sangat cepat dengan O untuk membentuk peroksil nitrit (ONOO⁻) dan NO yang berasal dari oksidan lain yang mampu merusak DNA dan protein. Teh hijau dan teh hitam serta *catechin* dan theaflavins dapat menghambat lipopolisakarida yang diinduksi ekspresi gen iNOS dan aktivitas iNOS di kultur makrofag. Katekin teh hijau dan theaflavins teh hitam muncul untuk *downregulate*

iNOS dengan menghambat aktivasi NF-KB. Selain itu, teh mengandung zinc, selenium dan mangan yang bertindak sebagai co-faktor dalam enzim antioksidan (Frei & Higdon, 2003).

2.7.5. Efek Samping Teh Hijau

Beberapa efek samping yang dapat ditimbulkan oleh teh hijau, tannin dalam teh memberikan sifat astringen dan kormogenik, serta gangguan absorpsi obat, sedangkan kafein menyebabkan gangguan pada saluran kemih, sehingga sering buang air kecil serta keracunan kafein kronis bila minum 5 cangkir teh per hari (mengandung kira-kira 600 mg kafein) dengan gejala gangguan makan, rasa lemah, gelisah, tremor, susah tidur, tidak nafsu makan, sakit kepala, pusing, jantung berdebar dan suka buang air besar (BPOM, 2010).

Efek lainnya juga terdapat pada gugus galoil polifenol teh yang bertanggung jawab atas pembentukan senyawa kompleks dengan zat besi (terutama besi non heme) dan menyebabkan besi sulit diserap (BPOM, 2010).

2.7.5. Dosis Teh Hijau

Teh hijau merupakan sumber yang kaya katekin, mengandung hingga 30% dari berat kering daun. Di samping itu Katekin juga dapat mengikat ion logam peralihan (ion fero dan lain-lain) (Chen, *et.al.*2002). Katekin memiliki manfaat yang sangat besar sebagai antioksidan. Namun konsumsi teh hijau yang berlebihan juga dapat menimbulkan efek prooksidan didalam tubuh.

Hasil penelitian Sukina, *et.al.* 2013 menyebutkan bahwa Di kelompok perlakuan P1 (diberi Pb dan Katekin dosis 22,5 mg/kgBB/hari), didapatkan kadar MDA eritrosit menurun secara bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok pembanding negatif (K(-)) (hanya diberi Pb), hal ini menunjukkan pengaruh pencegahan terhadap proses peroksidasi lipid di membran eritrosit.

Peningkatan dosis Katekin daun teh hijau di kelompok perlakuan P2 (diberi Pb

dan Katekin daun teh hijau dosis 33,75 mg/kgBB/hari) tidak dapat menurunkan kadar MDA eritrosit ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kelompok perlakuan P1 (diberi Pb dan Katekin daun teh hijau dosis 22,5 mg/kgBB/hari). Sedangkan di kelompok perlakuan P3 [diberi Pb dan diberi Katekin daun teh hijau dosis 45 mg/kgBB/ hari] secara bermakna meningkatkan kadar MDA dibandingkan dengan kelompok perlakuan P1 dan P2. Hal tersebut menunjukkan adanya aktivitas pro-oksidan. Hasil hitungan, dosis daun teh hijau yang telah diubah (dari tikus ke manusia), untuk dosis optimum sebagai antioksidan adalah 0,9492 g/hari dan untuk pro-oksidan adalah 1,8984 g/hari

2.8. Hewan Coba



Gambar 2.5. Hewan coba *Rattus norvegicus wistar strain*

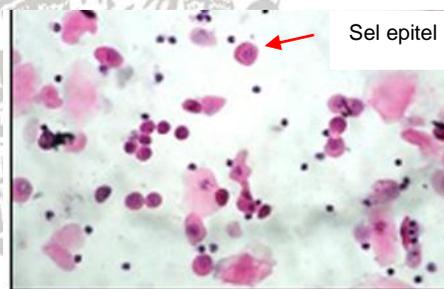
Dalam penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus wistar strain*). Tikus putih ini memiliki beberapa keunggulan yaitu penanganan dan pemeliharaan relatif mudah, kemampuan reproduksi tinggi dengan lama dan sistem reproduksi menyerupai mamalia (Pribadi, 2008).

Umur dewasa untuk tikus sekitar 60-90 hari (8-12 minggu), berat badan 150-200 gr (WHO), masa kehamilan 20-22 hari, masa menyusui 21 hari, lama hidup sekitar 4 tahun. Aktivitas reproduksi bersifat poliestrus yang artinya hewan jenis ini memiliki siklus birahi (estrus) lebih dari dua kali dalam satu tahun atau

siklus reproduksi terjadi berulang-ulang dalam satu tahun (Mc Namara, 2006). Hormon reproduksi berperan pada siklus estrus yang berlangsung 4-6 hari, timbul setelah vagina membuka 1-2 hari pada saat tikus berumur 28-29 hari.

Siklus estrus terbagi atas empat periode, yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus (Westwood, 2008).

Fase proestrus dimulai dengan regresi korpus luteum dan berhentinya progesteron dan dimulainya fase estrus. Pada fase ini terjadi pertumbuhan folikel yang sangat cepat. Akhir periode ditandai dengan adanya efek estrogen pada sistem saluran dan gejala perilaku perkembangan estrus dapat diamati. Fase proestrus berlangsung sekitar 2-3 hari dan ditandai dengan pertumbuhan folikel dan produksi estrogen. Peningkatan jumlah estrogen menyebabkan pemasakan darah ke sistem reproduksi dan sekresi kelenjar dirangsang dengan hadirnya viscid mucus yang dapat diamati pada vulva (Westwood, 2008).

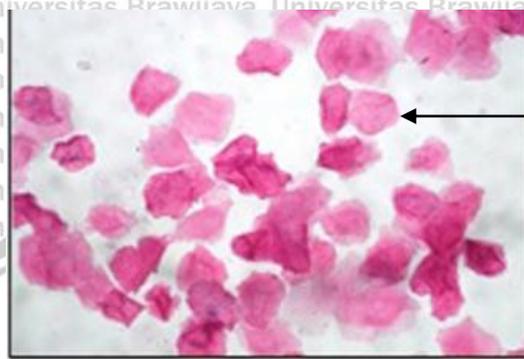


Gambar 2.6. Fase Proestrus

Keterangan: Apusan pada fase proestrus didominasi oleh sel epitel berinti (Marcondes et al., 2002)

Fase estrus merupakan periode waktu ketika betina reseptif terhadap jantan dan akan melakukan perkawinan. Ovulasi berhubungan dengan fase estrus yaitu setelah selesai fase estrus. Untuk mengetahui hasil perkawinan tersebut dengan cara melakukan usapan vagina, yaitu memasukkan sedikit larutan garam fisiologis ke dalam vagina, diapus, kemudian apusan diletakkan pada slide dan diperiksa di bawah mikroskop yang ditandai adanya spermatozoa

dalam usapan vagina tersebut. Proses estrus sangat erat kaitannya dengan mekanisme sistem hormonal. Pada fase ini estrogen bertindak terhadap sistem saraf pusat. Setelah 14-18 jam, fase estrus mulai berhenti, dimana betina tidak akan mengalami ovulasi hingga setelah fase estrus (Marcondes *et al.*, 2002).

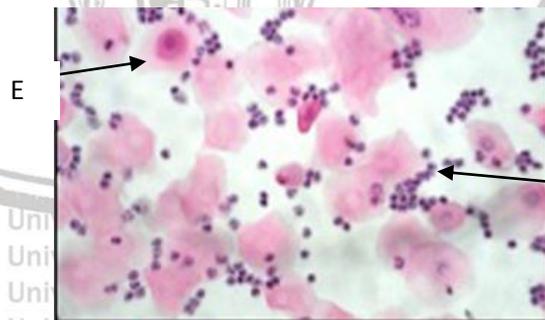


Sel epitel tidak berinti

Gambar 2.7. Fase Estrus

Keterangan: Apusan pada fase estrus didominasi oleh sel epitel tidak berinti (Marcondes *et al.*, 2002)

Fase metestrus diawali dengan pengehentian fase estrus. Umumnya pada fase ini merupakan fase terbentuknya korpus luteum sehingga ovulasi terjadi selama fase ini. Selain itu, pada fase ini juga terjadi peristiwa yang dikenal dengan metestrus bleeding (Marcondes *et al.*, 2002).



Gambar 2.8. Fase Metestrus

Keterangan: Apusan pada fase metestrus ada leukosit, sel epitel berinti (Marcondes *et al.*, 2002)

E: sel epitel berinti; L: Leukosit

Fase diestrus merupakan fase korpus luteum bekerja secara optimal, dimulai ketika konsentrasi progesteron darah meningkat dapat dideteksi dan

diakhiri dengan regresi korpus luteum. Fase ini disebut juga fase persiapan uterus untuk kehamilan. Fase ini merupakan fase terpanjang dalam siklus estrus. Terjadinya kehamilan atau tidak, korpus luteum akan berkembang dengan sendirinya menjadi organ fungsional yang menghasilkan sejumlah progesteron. Jika telur yang dibuahi mencapai uterus, maka korpus luteum akan dijaga dari kehamilan. Jika telur yang tidak dibuahi sampai ke uterus, maka korpus luteum akan berfungsi hanya beberapa hari, setelah itu korpus luteum akan meluruh dan akan masuk ke siklus estrus yang baru (Marcondes *et al.*, 2002).



Leukosit

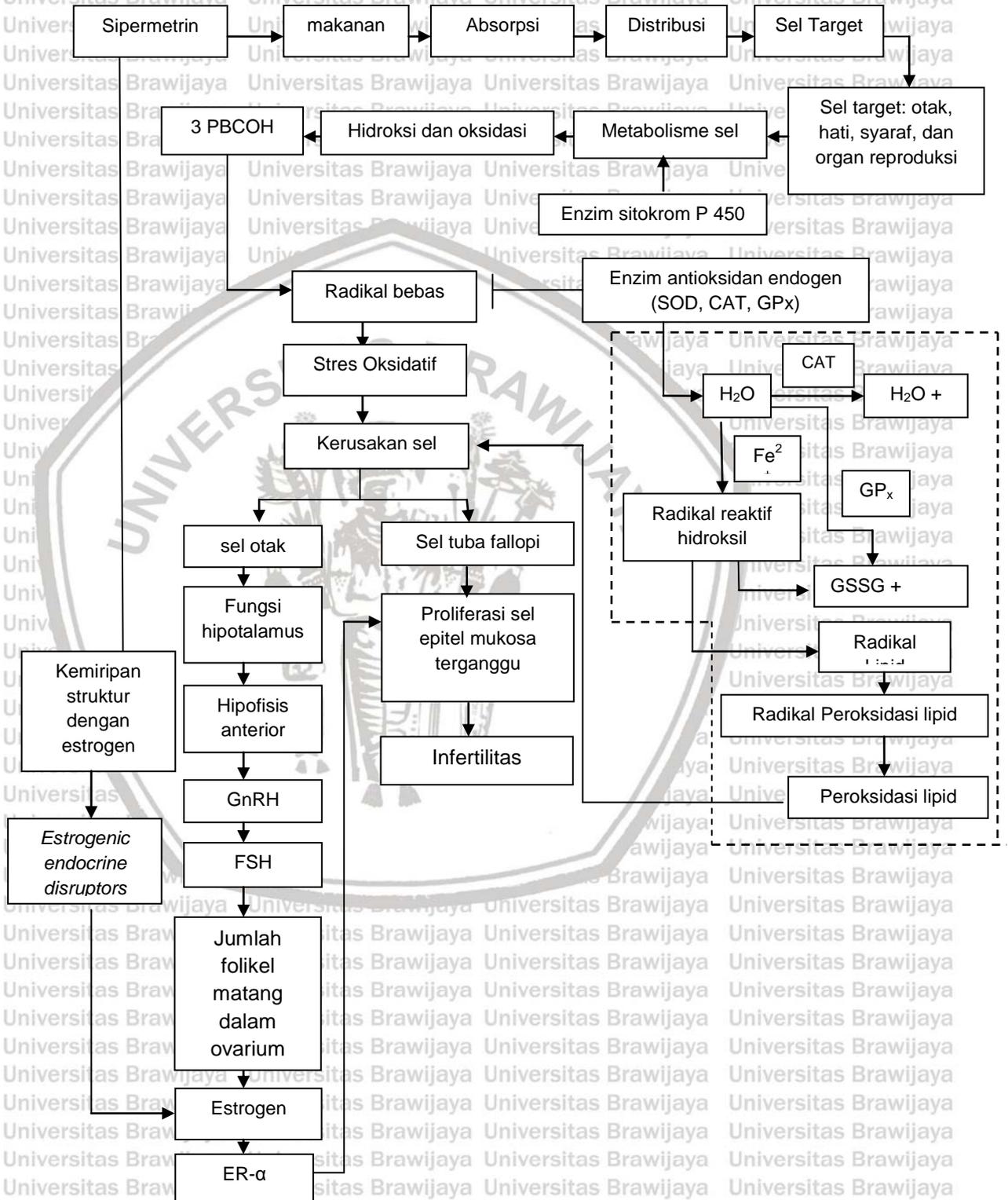
Gambar 2.9. Fase Diestrus

Keterangan: Apusan pada fase diestrus didominasi oleh leukosit (Marcondes *et al.*, 2002)

BAB 3

KERANGKA TEORI DAN KONSEP PENELITIAN

3.1. Kerangka Teori



Gambar 3.1 Kerangka Teori Penelitian

Keterangan Kerangka Teori:

Sipermetrin merupakan insektisida jenis piretroid tipe 2. Jenis pestisida ini banyak digunakan karena berspektrum luas, harganya yang murah dan tingkat toksisitas yang rendah pada mamalia. Paparan sipermetrin ini dapat masuk kedalam tubuh manusia melalui makanan, masuk ke sistem pencernaan untuk diabsorpsi hingga akhirnya didistribusikan keseluruh tubuh melalui peredaran darah. Makanan yang tidak dicuci dan diolah dengan benar dapat menyimpan residu sipermetrin. Residu yang tidak dapat terekskresi lama-kelamaan akan menumpuk didalam tubuh dan terakumulasi menjadi banyak sehingga menjadi bahan asing yang bersifat toksik.

Sipermetrin yang beredar melalui peredaran darah hingga mencapai sel target yaitu otak, hati, syaraf, dan organ reproduksi. Didalam sel metabolisme terjadi melalui pembelahan hidrolitik ester dan jalur oksidatif oleh enzim sitrokrom P450. Hasil metabolisme sipermetrin berupa 3 phenoxybenzoid acid (3-PBCOH) yang meningkat jumlahnya, menyebabkan radikal bebas.

Banyaknya radikal bebas didalam tubuh menyebabkan jumlah enzim antioksidan didalam tubuh sebagai lini pertahanan pertama tidak mampu melawan. Akibatnya, terjadi ketidakseimbangan pembentukan radikal bebas dan aktivitas pertahanan enzim antioksidan. Radikal bebas yang dibiarkan, lama kelamaan dapat menyebabkan stress oksidatif hingga terjadi kerusakan sel.

Enzim antioksidan terdiri dari SOD, CAT dan GPx. Penurunan aktivitas enzim SOD disebabkan peningkatan akumulasi superoksida. Hal ini juga menyebabkan enzim GPx juga menurun. Penurunan enzim tersebut akan meningkatkan akumulasi H_2O_2 didalam sel yang menyebabkan inaktivasi SOD (Muthusami, *et.al*,2005; Wauquier. *et.al*,2009).

SOD dapat mengkatalis dismutasi radikal anion superoksida menjadi H_2O_2 dan O_2 . Sementara enzim GPx dapat mengubah molekul hidrogen peroksida menjadi air. GPx mengoksidasi glutathion tereduksi (GSH) menjadi glutathion teroksidasi (GSSG). Sedangkan enzim CAT memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 .

Hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan oksidan non radikal dan bila bereaksi dengan logam transisi (Fe^{2+}) maka akan berubah menjadi radikal bebas (radikal reaktif hidroksil/reaksi fenton (Muchtadi, 2013)). Radikal hidroksil memisahkan elektron dari asam lemak tak jenuh ganda (RH) dan menimbulkan radikal *carbon centred lipid* (R^\cdot). Lipid radikal yang bereaksi dengan molekul oksigen maka berubah menjadi radikal lipid peroksil. Jika radikal lipid peroksil tidak direduksi oleh antioksidan maka akan terjadi proses peroksidasi lipid (Winarsi, 2007).

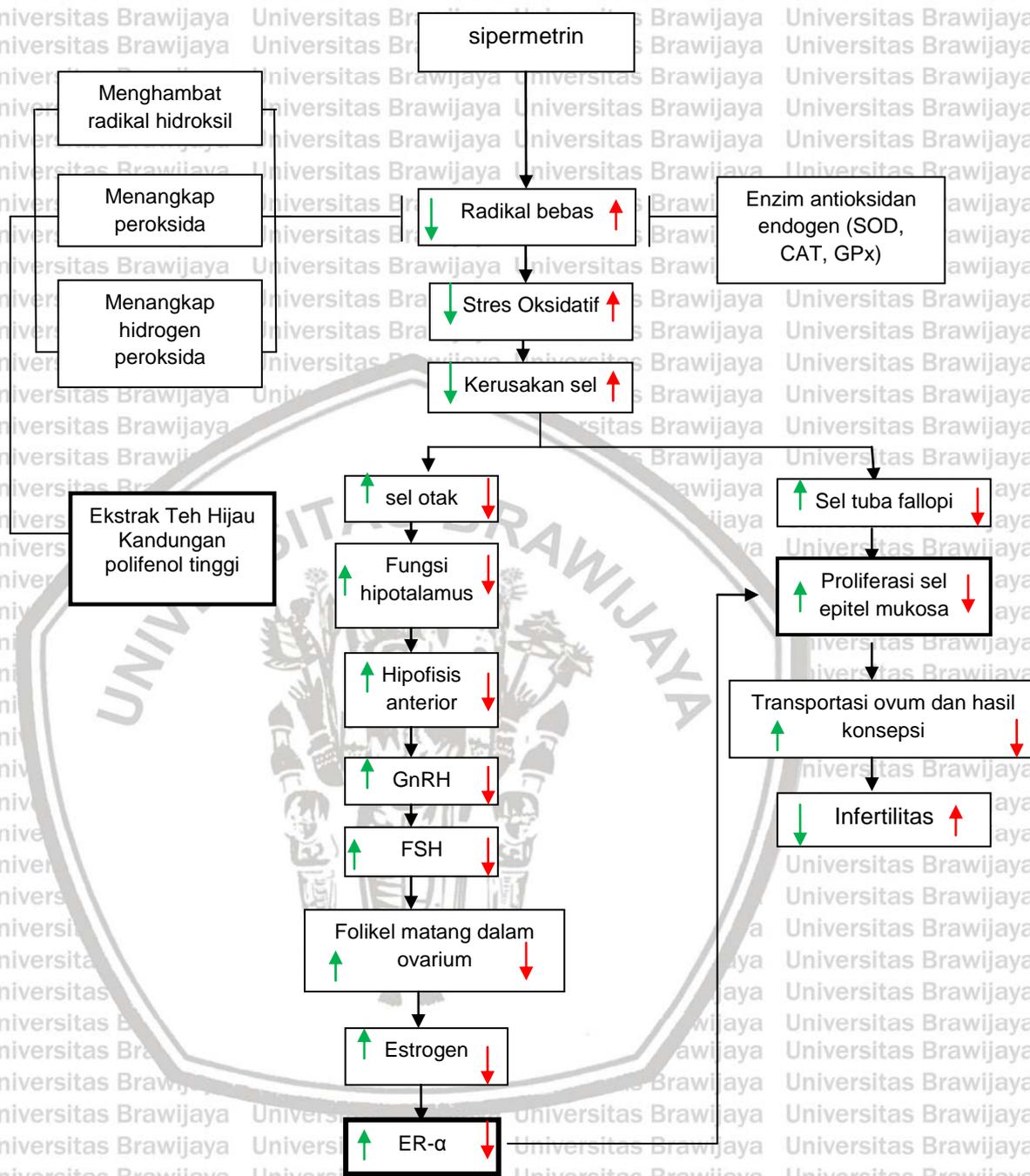
Peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan sel, diantaranya sel otak dan sel tuba fallopi. Kerusakan sel otak dapat mempengaruhi fungsi hipotalamus. Penurunan fungsi hipotalamus menyebabkan produksi FSH juga menurun, sehingga menyebabkan folikulogenesis didalam ovarium terganggu dan berakibat pada penurunan hormon estrogen. Kondisi estrogen yang rendah dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim SOD dan enzim GPx (Muthusami, *et.al*,2005; Wauquier. *et.al*,2009).

Peroksidasi lipid juga menyebabkan kerusakan pada sel-sel tuba fallopi yaitu pada sel-sel epitel mukosa pada tuba. Kerusakan sel tersebut menyebabkan sel epitel tidak mampu berproliferasi sehingga akan menghambat transportasi ovum untuk bertemu sperma.

Fungsi utama tuba fallopi dipengaruhi oleh motilitas, sekresi dan silia. Ketiganya dipengaruhi oleh kadar estrogen. Estrogen berperan pada reseptor estrogen α . Reseptor estrogen α berperan dalam proliferasi epitel tuba, baik itu sel epitel bersilia maupun sekretorik. Jika sel epitel mukosa tidak berproliferasi karena radikal bebas, maka dapat menyebabkan kegiatan ovum untuk bertemu sperma akan terganggu, sehingga akan meningkatkan infertilitas.



3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan gambar:

- ↑ ↓ : Efek Sipermetrin
- ↓ ↑ : Efek teh hijau
- : Diteliti
- : Tidak diteliti

Keterangan Kerangka Konsep :

Paparan sipermetrin per oral memiliki pengaruh pada otak dan organ reproduksi salah satunya tuba fallopi, yang beredar melalui peredaran darah.

Hasil metabolisme sipermetrin yang meningkat berupa 3PBCOH akan terakumulasi dalam tubuh sehingga menjadi radikal besar.

Semakin banyaknya radikal dalam tubuh sehingga menyebabkan enzim antioksidan endogen (SOD, CAT, GPx) tidak mampu lagi untuk melawan tingginya radikal bebas. Sehingga terjadi ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan sehingga timbullah stres oksidatif.

Stres oksidatif yang timbul, lama kelamaan akan menyebabkan kerusakan pada sel. Diantaranya pada sel-sel otak dan sel-sel tuba fallopi.

Berkurangnya fungsi hipotalamus, akibat adanya stres oksidatif menyebabkan penurunan produksi GnRH. Penurunan GnRH mengakibatkan penurunan jumlah FSH sehingga folikulogenesis dalam ovarium menjadi berkurang. Dengan demikian maka produksi esterogen juga berkurang. Akibat berkurangnya jumlah estrogen, menyebabkan penurunan ekspresi dari ER- α sehingga mengakibatkan sel epitel mukosa tuba fallopi tidak dapat berproliferasi. Sel epitel mukosa tuba fallopi terdiri dari sel epitel bersilia dan sel epitel sekretorik. Keduanya berperan dalam transportasi ovum.

Paparan sipermetrin juga dapat langsung menuju pada sel-sel targetnya, yaitu sel tuba fallopi. Radikal bebas yang disebabkan oleh sipermetrin pada tuba fallopi juga dapat dilihat dari peningkatan *peroksidase lipid* yang ada pada membran sel, yang menyebabkan kerusakan sel sehingga akan mempengaruhi kemampuan sel untuk berproliferasi.

Ketika antioksidan endogen yang merupakan lini pertahanan pertama dalam tubuh tidak mampu lagi menetralkan radikal bebas, maka diperlukan antioksidan dari luar atau biasa disebut antioksidan sekunder. Mekanisme antioksidan sekunder ini bekerja dengan cara sebagai pengikat ion-ion logam, penangkap O_2 , pengurai H_2O_2 , menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak bereaksi dengan komponen seluler. Salah satu antioksidan dari luar yang dapat digunakan adalah teh hijau.

Teh hijau sebagai antioksidan alami dari luar diberikan guna mengurangi radikal bebas yang ada. Dengan kandungan polifenolnya yang tinggi yakni 100x lebih kuat dari vitamin C dan 25x lebih kuat dari vitamin E (Syah, 2006). Polifenol yang terdapat dalam teh hijau yakni katekin. Berdasarkan beberapa penelitian katekin dapat mengurangi efek radikal bebas dengan cara menghambat radikal hidroksil, menangkap peroksida, dan menangkap hidrogen peroksida. Sehingga infertilitas akibat paparan pestisida ini dapat dicegah.

3.3. Hipotesis Penelitian

Hipotesis utama dalam penelitian ini adalah "Pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat mencegah penurunan ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus betina galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sipermetrin".

Sub hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat mencegah penurunan ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus betina galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sipermetrin.

2. Ada hubungan antara dosis pemberian ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus betina galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sipermetrin.

3. Ada hubungan antara ekspresi ER- α dengan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus betina galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sipermetrin.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *true experimental* laboratory dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan *post test* dengan kelompok kontrol (*Randomized Post Test Only Control Group Design*) (Hanafiah, 2012). Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jenis *Rattus norvegicus* galur Wistar. Penelitian *true experimental* bertujuan untuk mengetahui hubungan sebab akibat untuk membandingkan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Sastroasmoro, 2011). Tahapan dalam penelitian ini memberikan perlakuan pada lima kelompok dengan pemberian teh hijau yang berbeda pada kelompok perlakuan, 1 kelompok sebagai kontrol positif dan 1 kelompok sebagai kontrol negatif. Perlakuan diberikan selama 28 hari dengan memberikan paparan sipermetrin dan teh hijau per oral melalui sonde lambung.

4.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Farmakologi untuk ekstraksi teh hijau dan pemeliharaan hewan coba, laboratorium Patologi Anatomi untuk pembuatan slide histopatologi, pemeriksaan epitel mukosa sel sekretorik tupa fallopi dan Immunohistokimia untuk pemeriksaan ekspresi reseptor estrogen α . Waktu dan pelaksanaan penelitian dimulai dari bulan Februari – Maret 2018, dengan rincian: selama 7 hari aklimatisasi, 28 hari waktu untuk memberi perlakuan dan waktu selanjutnya digunakan untuk menganalisa data.

4.3. Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel berupa hewan coba tikus putih betina jenis *Rattus norvegicus* galur Wistar. Tikus diperoleh dari laboratorium

Farmakologi Universitas Brawijaya. Alasan pemilihan tikus putih pada penelitian ini adalah karena fungsi, bentuk organ, proses biokimia dan biofisik memiliki kemiripan dengan manusia, mudah dipelihara, merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk digunakan pada berbagai jenis penelitian.

Kriteria inklusi :

1. Tikus *strain Wistar*
2. Jenis kelamin betina
3. Usia 10-12 minggu (usia reproduktif) (WHO)
4. Berat badan 150-200 gr (WHO)
5. Kondisi sehat, aktif, tidak terdapat kecacatan secara anatomi dan tidak hamil

Kriteria eksklusi :

1. Tikus dalam kondisi sakit atau mati saat masa perlakuan

4.4. Besar Sampel

Sampel setiap kelompok dihitung berdasarkan rumus Hanafiah (2012).

Rumus : $(t-1) (r-1) \geq 15$	Keterangan:
$(5-1) (r-1) \geq 15$	t : jumlah perlakuan
$4 (r-1) \geq 15$	r : jumlah ulangan
$4r-4 \geq 15$	
$4r \geq 19$	
$r \geq 19 : 4$	
$r \geq 4,75$ (dibulatkan 5)	

Didapatkan jumlah sampel untuk tiap kelompok adalah 5 tikus, sehingga sampel penelitian sebanyak 25 tikus. Untuk menghindari kematian sampel akibat toksisitas, maka sampel dilebihkan jumlahnya pada masing-masing kelompok perlakuan sebanyak 1 ekor. Jadi jumlah keseluruhan sampel sebanyak 30 ekor.

4.5. Pembagian Kelompok

Besar sampel berjumlah 30 ekor tikus yang terbagi menjadi lima kelompok, yaitu:

K (-) : Kelompok kontrol negatif, yaitu tikus tanpa perlakuan terdiri dari 6 tikus betina *Rattus norvegicus* yang tanpa diberikan sipermetrin ataupun ekstrak teh hijau, hanya diberikan aquabudest saja.

K (+) : Kelompok kontrol positif, yaitu tikus tanpa perlakuan terdiri dari 6 tikus betina *Rattus norvegicus*, diberikan sipermetrin dalam air matang dengan dosis 20 mg/kgBB tanpa diberikan ekstrak teh hijau.

P1 : Kelompok Perlakuan 1, yaitu tikus dengan perlakuan terdiri dari 6 tikus betina *Rattus norvegicus*, diberikan sipermetrin dalam air matang dengan dosis 20 mg/kgBB dan diberikan ekstrak teh hijau dengan dosis 7 mg/KgBB/hari.

P2 : Kelompok Perlakuan 2, yaitu tikus dengan perlakuan terdiri dari 6 tikus betina *Rattus norvegicus*, diberikan sipermetrin dalam air matang dengan dosis 20 mg/kgBB dan diberikan ekstrak etanol teh hijau dengan dosis 14 mg/KgBB/hari.

P3 : Kelompok Perlakuan 3, yaitu tikus dengan perlakuan terdiri dari 6 tikus betina *Rattus norvegicus*, diberikan sipermetrin dengan air matang dosis 20 mg/kgBB dan diberikan ekstrak etanol teh hijau dengan dosis 28 mg/KgBB/hari.

4.6. Variabel Penelitian

4.6.1. Variabel Independen (Bebas)

Variabel Independen dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak teh hijau.

4.6.2. Variabel Dependen (Terikat)

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi.

4.7. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur/Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Data
Sipermetrin	Insektisida yang bermerk dagang Rizotin 100 EC dengan kandungan bahan aktif sipermetrin 100 gr/L diberikan dengan dosis 10 mg/kgBB selama 28 hari per oral melalui sonde lambung	Mengukur dengan spuit 1 cc	Dosis sipermetrin 20 mg/kgBB	
Variabel bebas				
Ekstrak etanol teh hijau per oral.	Teh hijau dari pekebunan teh Gunung Gambir, Jember. Ekstrak teh hijau diperoleh dari 100 gr daun muda teh hijau kering. Diproses dengan menggunakan metode maserasi dengan etanol 96% sebagai pelarut sebanyak 900ml (Mahmood <i>et al.</i> , 2015)	Mengukur dengan spuit 3 cc	Dosis teh ordinal hijau, antara lain: 7, 14, 28 mg/kgBB per hari per tikus	
Variabel tergantung				
Ekspresi ER- α	Jumlah rata-rata sel epitel mukosa tuba fallopi <i>Rattus novergicus</i> yang mengekspresikan ER- α dengan pembesaran 1000x yang diamati pada 10 lapang pandang,	Imunohisto-kimia	Jumlah rata-rata ekspresi ER- α pada sel epitel mukosa tuba fallopi ../ HPF (<i>High</i>	Rasio

	dimana Ekspresi ER α tampak berwarna coklat pada inti sel epitel mukosa tuba fallopi yang discan dengan mikroskop XC 10 dan diamati dengan <i>olyvia software olympus</i> (Suherli, 2017).	<i>Power Field</i>).
Jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi	Rata-rata Jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi dengan pemeriksaan histopatologis pewarnaan Hematoksin dan Eosin (HE) yang diamati pada 10 lapangan pandang menggunakan <i>olyvia software olympus</i> dengan pembesaran 1000x (Umami, et.al., 2014)	Rata-rata Rasio Jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi per lapangan pandang besar (1000x)

4.8. Bahan dan Alat Penelitian

4.8.1. Bahan dan Alat Penelitian

4.8.1.1. Bahan dan Alat Pemeliharaan Hewan Coba

a. Bahan

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih betina dewasa dengan kondisi sehat jenis *Rattus norvegicus* galur Wistar, yang berumur 10-12 minggu dengan berat badan $\pm 150-200$ gram, gerak aktif. Tikus di dapatkan dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan dipelihara pada kandang dengan ukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm, setiap kandang berisi 3 ekor tikus dan lama perlakuan adalah 28 hari. Untuk pemeliharaan hewan coba diperlukan bahan: sekam sebagai alas kandang, pakan standar produk PT. Comfeed Indonesia, dan air minum untuk hewan coba dari air matang diberikan setiap hari.

b. Alat

Alat untuk pemeliharaan hewan coba antara lain: kandang tikus berupa box plastik sebanyak 10 buah dengan alas diberi sekam dan bagian atas kandang ditutupi dengan kawat berjaring, tempat makanan dan minuman tikus, sonde yang di pasang pada ujung spuit yang berfungsi untuk memasukkan sipermetrin dan teh hijau melalui sonde.

4.8.1.2. Bahan dan Alat Pembuatan Ekstrak Teh Hijau

a. Bahan

Bahan untuk pembuatan ekstrak teh hijau antara lain: daun teh hijau kering, etanol 96%, air matang.

b. Alat

Timbangan analitik, blender, pengaduk, kertas saring whatman, oven, waterbath, gelas beker, botol.

4.8.1.3. Bahan dan Alat Pembuatan Larutan Sipermetrin

a. Bahan

Bahan untuk pembuatan ekstrak teh hijau antara lain: Rizotin 100 EC mengandung 100 mg/L sipermetrin dan air matang.

b. Alat

Alat untuk membuat larutan stok Sipermetrin adalah pipet, tip, botol, alat sentrifugal, ependrof. Alat untuk pemberian Sipermetrin antara lain: spuit 1ml, sonde yang ujungnya terbuat dari bahan timah, spuit 2,5 ml yang ujungnya dipasang sonde sehingga dapat dimasukkan ke dalam mulut sampai ke lambung tikus.

4.8.1.4. Bahan dan Alat untuk Pembuatan Swab Vagina

a. Bahan : Cat Giemsa, alkohol, NaCl 0,9%

b. Alat : cotton bud, cover glass, object glass, mikroskop.

4.8.1.5. Bahan dan Alat untuk Pembedahan Hewan Coba

a. Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk pengambilan organ tuba fallopi tikus antara lain: ketamin 1-2 mg untuk pembiusan tikus, formalin 10% sebanyak 1 liter untuk pengawetan organ tuba fallopi, cairan fisiologi NaCl 0,9%, kapas alkohol.

b. Alat

Alat untuk pengambilan organ tuba fallopi antara lain: toples kaca tertutup berisi formalin 10%, alat bedah minor (scapel, pinset, gunting, klem, pemegang jaringan), papan pembedahan, wadah untuk tempat penyimpanan sementara organ sebelum dibuat preparat histopatologi.

4.8.1.6. Bahan dan Alat untuk Pembuatan Slide Histopatologi

a. Bahan

Bahan yang digunakan untuk pembuatan slide histopatologi antara lain: Jaringan tuba, Formalin 10% sebanyak 1 liter , Air mengalir, NaCl, Xylol 2 liter, Parafin cair, Alkohol (70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 100%), alkohol, cassate

b. Alat

Tissue Tex Prosesor, alat microtome, oven

4.8.1.7. Bahan dan Alat untuk Pemeriksaan Ekspresi ER- α dengan IHK

a. Bahan Pewarnaan Ekspresi ER- α dengan IHK

Untuk pemeriksaan ekspresi ER- α tuba fallopi tikus diantaranya: Jaringan segar tuba fallopi, antibodi ER α (D-12): sc-8005, merk: Santa Cruz Biotechnology, Inc, buffer formalin 10%, acetone, xilol, ethanol absolut, alkohol 90%, alkohol 80%, parafin, tissue casset, object glass, H₂O₂, methanol, larutan decloaking, Phospat Buffer Saline, aquades, background sniper, anti bodi primer, anti bodi sekunder, trekavidin-HRP, Betazoid Dab substrat buffer, DAB Chromogen, Mayer Hematoxilen, Entellan, Cover glass, Immunotasting kit merk Biocare Medical, nomor katalog: STUHRP700 H.

b. Alat Pewarnaan Ekspresi ER- α dengan IHK

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : pisau microtome, microtome, waterbath, inkubator, Pap pen, Decloaking Chamber, Mikroskop, mikropipet, pinset, bunsen, teko aluminium, basket jaringan, Wadah kaca bertutup rapat

4.8.1.8. Bahan Dan Alat Untuk Pewarnaan Sel Epitel Mukosa Tuba Fallopi

Dengan HE

a. Bahan Pewarnaan HE

Untuk membuat preparat histopatologi: Tuba fallopi Rattus norvegicus, Cat Harris hematoxililn (Cat Utama), Cat eosin 1%, Formalin 10% sebanyak 1 liter, Air mengalir, NaCl, Xylol 2 liter, Parafin cair, Alkohol (70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 100%), Entellan, Alkohol asam 1%, Amonia cair, cover glass

b. Alat Pewarnaan HE

Untuk pembuatan sediaan pewarnaan HE tuba fallopi adalah *stanning jar* dan *stanning rak*.

4.8.1.9. Bahan dan Alat untuk Penghitungan Ekspresi ER- α dan Jumlah Sel

Epitel Mukosa Tuba Fallopi

a. Bahan yang digunakan antara lain slide hasil pewarnaan dengan imunohistokimia dan pewarnaan HE.

b. Alat yang digunakan adalah mikroskop olympus XC 10 untuk *scan* dan *olyvia software olympus*

4.9. Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

1. Aklimatisasi hewan coba

Tikus betina dewasa dibiarkan selama 1 minggu di dalam kandang untuk menyesuaikan diri dengan lingkungannya dan diberikan pakan standar, selanjutnya adalah tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Satu kelompok sebagai kelompok kontrol negatif, satu kelompok kontrol positif dan tiga kelompok sebagai kelompok perlakuan.

2. Pemeliharaan hewan coba

Perawatan tikus selama perlakuan sama seperti saat aklimatisasi. Tikus dimasukkan kedalam kandang yang terbuat dari baskom plastik berukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm dengan diberi penutup kawat yang kuat. Dasar kandang dialasi dengan sekam setebal 0,5 – 1 cm dan diganti setiap 3 hari sekali. Setiap kandang berisi 3 ekor tikus. Menciptakan suasana lingkungan yang stabil dengan ventilasi yang cukup dan suhu ruangan yang baik dengan kebutuhan fisiologis tikus antara 27°C - 28°C. Tikus diberikan pakan standar yang berbentuk pallet

merk Comfeed, minumnya diberikan air matang secara ad libitum. Pemberian makan diberikan 1x sehari sore hari sebanyak 40 gr/hari/ekor.

3. Penimbangan berat badan tikus

Penimbangan berat badan tikus dilakukan setiap minggu, menggunakan wadah plastik dan timbangan elektrik. Cara penimbangan dilakukan dengan meletakkan timbangan ditempat yang datar, kemudian timbangan dikalibrasi dengan meletakkan wadah plastik diatas timbangan. Kemudian tikus dimasukkan kedalam wadah plastik lalu ditimbang dan hasilnya dicatat. Tujuan penimbangan adalah untuk mengetahui adanya peningkatan atau penurunan berat badan tikus selama penelitian serta untuk menghitung pemberian dosis sipermetrin dan ekstrak teh hijau

4. Pembuatan dan Pemberian Sipermetrin

Sipermetrin diberikan secara per oral melalui sonde. Sampel yang digunakan sebanyak 30 ekor tikus yang masing-masing diberikan per sonde 1 kali sehari pada siang hari dengan dosis 20 mg/BBkg.

Proses pembuatan larutan sipermetrin diawali dengan dengan menyiapkan stok yang sudah ada dari pabrikan yaitu 100 mg/ml. Kemudian larutan uji dibuat dengan pengenceran larutan stok dengan rumus:

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$$

Keterangan:

- C1 : Konsentrasi larutan stok (C1 =100 mg)
- V1 : Volume larutan stok
- C2 : Konsentrasi larutan uji yang digunakan (C2 =20 mg)
- V2 : Volume larutan uji yang ingin dibuat (V2 =1 ml)

Kemudian larutan diencerkan dengan air matang. Pemberian sipermetrin per tikus tiap hari adalah 1 ml. Diketahui dari hasil penghitungan dengan rumus $V_1 = 0,2 \text{ ml/KgBB}$, sehingga jika ingin membuat larutan stok sipermetrin dengan dosis 20 mg/kg maka ditambahkan air matang sebanyak 0,98 ml. Larutan stok sipermetrin dibuat setiap hari saat akan diberikan.

5. Pembuatan dan Pemberian Ekstrak Teh Hijau

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Metode maserasi adalah proses mengekstrak menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar (Hukmah, 2007).

Cara Kerja Metode Maserasi :

a. Proses Pengeringan

- Teh hijau sudah dalam keadaan kering

b. Proses Ekstraksi

- Bahan yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 100 gram, kemudian dimasukkan ke dalam gelas beker ukuran $\pm 1\text{L}$
- Pelarut etanol 96% dituangkan dengan perbandingan 1:9 (100 gr bahan yang telah dihaluskan dan 900 ml etanol 96%).
- Bahan yg telah dihaluskan direndam dengan etanol 96% sebanyak 900 ml. Bahan dan pelarut diocok sampai benar-benar tercampur (± 30 menit).
Dilakukan sebanyak 3 kali.

- Bahan yang telah tercampur direndam dan didiamkan pada suhu kamar selama satu malam sampai mengendap. Dilakukan sebanyak 3 kali
- Diambil lapisan atas yang merupakan campuran pelarut dan zat aktif.

c. Proses Evaporasi

- Campuran pelarut dan zat aktif yang telah disaring dimasukkan kedalam labu evaporasi 1L, kemudian dipasang pada evaporator.
- *Water bath* diisi air sampai penuh dan diatur suhunya sampai 90°C.
- Semua rangkaian alat dipasang dan disambungkan dengan aliran listrik
- Larutan etanol dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu evaporasi. Larutan etanol ditunggu sampai berhenti menetes pada labu penampung ($\pm 1,5 - 2$ jam) ± 900 ml
- Hasil ekstraksi diperoleh $\pm 1/5$ dari bahan alami kering, sehingga diperoleh hasil akhir dari 100 gr teh hijau menghasilkan ekstrak ± 20 gr
- Hasil ekstraksi dimasukkan kedalam botol. Botol berisi ekstrak teh hijau disimpan dalam freezer

Proses Pengenceran Ekstrak Teh Hijau

- a. Pemberian ekstrak teh hijau dilakukan setiap hari pada setiap kelompok tikus sebanyak 1 ml selama 28 hari. Untuk pengenceran ekstrak teh hijau dibuat dengan pengenceran aquades sebanyak 60 ml. Pemberian dilakukan secara oral dengan menggunakan spuit 3 cc yang diujungnya dipasang platina dengan metode sonde sesuai dengan dosis yang telah ditentukan.
- b. Menentukan dosis ekstrak teh hijau berdasarkan deret ukur menurut Harmita (2006), dengan rumus: $Y_N = Y_1 \times R^{N-1}$

Keterangan:

- Y_N : Dosis ke-n
- N : Kelompok ke

R^{N-1} : Faktor geometris $\neq 0$ atau 1 kelipatan dosis

Diketahui dalam perhitungan dosis pemberian teh hijau ini faktor geometrisnya adalah 2, telah ditentukan dosis I = 7 mg/kgBB/hari. Maka, dosis II: $Y_2 = 14$ mg/kgBB/hari, dosis III: $Y_3 = 28$ mg/kgBB/hari

- c. Hasil pengenceran dimasukkan ke dalam botol dan disimpan dalam lemari es.

6. Penentuan siklus proestrus tikus

Dalam penelitian ini, *swab vagina* dilakukan pada hari ke 29 perlakuan. Hewan coba yang akan diterminasi adalah tikus yang sedang berada pada fase proestrus yang ditandai oleh banyaknya sel epitel yang memiliki inti, berbentuk bulat dan sedikitnya leukosit. Apabila ada hewan yang belum memasuki fase ini maka perlakuan akan dihentikan sambil dilakukan *swab vagina* setiap hari sampai tikus memasuki fase proestrus.

Pengambilan sampel sitologi mulai dilakukan pada hari ke 29. Sampel diperoleh dengan mengambil jaringan epitel vagina tikus. Cara kerja :

- a. *Cotton bud* yang telah dibasahi dengan larutan NaCl 0,9% diambil kemudian dimasukkan ke dalam vagina tikus dengan sudut 45° dan melakukan apus sebanyak 1 - 2 kali putaran.
- b. Hasil apusan dari *cotton bud* dioleskan pada objek glass dan dikeringkan, selanjutnya dilakukan pewarnaan pada preparat apusan vagina. Setiap pengambilan sampel apusan vagina dibuat sebanyak 2 preparat apusan untuk 1 tikus (Prayogha, 2012).
- c. Preparat apusan yang telah dikeringkan dimasukkan ke dalam larutan alkohol absolut untuk difiksasi selama 3 menit kemudian diangkat, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan.

- d. Preparat dimasukkan ke dalam larutan giemsa selama 15 menit, kemudian diangkat dan dibilas dengan air mengalir, lalu dikering anginkan dan diamati morfologi sel epitel di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x kemudian dicatat (Prayogha, 2012).

7. Pembedahan hewan coba

Menurut Suherlin (2017), prosedur pembedahan hewan coba yaitu:

- a. Alat dan bahan untuk bedah minor disiapkan
- b. Tikus diinjeksi dengan ketamin sebanyak 0,2 ml dan ditunggu beberapa menit sampai tikus tidak bergerak lagi.
- c. Tikus diletakkan di atas alas papan dengan perut menghadap ke atas dan menggunakan paku payung untuk ditancapkan pada ke empat telapak kaki.
- d. Dinding perut dibuka dengan menggunakan pinset dan dan gunting secara hati - hati, dengan sayatan pada garis tengah dilanjutkan ke samping kiri dan kanan pada sisi atas dan bawah sampai terlihat tuba fallopi.
- e. Setelah itu tuba fallopi diambil dengan hati-hati dengan cara menggantung.
- f. 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 tekan.
- g. Setelah air pada organ mengering, selanjutnya pisahkan tuba fallopi 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.

- h. Jaringan siap untuk diproses menjadi preparat di Laboratorium Patologi dan Anatomi FKUB, untuk pemeriksaan ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi.
- i. Bangkai tikus yang tersisa dan tidak digunakan lagi dikubur dengan aman sehingga tidak terjadi pencemaran lingkungan.

8. Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi

Prosedur pembuatan preparat histologin yaitu:

Prosedur pembuatan sediaan histologi diawali dari penerimaan sampel yang difiksasi dalam buffer formalin 10% selama 18 jam, jaringan yang berukuran besar dibelah, jaringan yang telah difiksasi dipotong sempurna dengan ketebalan 2-3 mm. Potongan jaringan tersebut dimasukkan dalam *tissue casset* yang dilabel dan ditutup.

Tahap selanjutnya yaitu dehidrasi, pembenangan (clearing), pembenaman (impregnasi/embedding), pengecoran (blocking), lalu didinginkan pada lempeng pendingin. Tahap selanjutnya adalah pemotongan (sectioning) dengan Mikrotom, hasil pemotongan berupa pita tipis dimasukkan ke waterbath berisi air hangat lalu diambil dengan object glass yang diolesi albumin gliserin.

Selanjutnya dilakukan inkubasi over night di inkubator. Tahap selanjutnya adalah pewarnaan (staining).

Proses Pemotongan Jaringan Mikroskopis

- c. Jaringan tuba fallopi difiksasi dengan larutan buffer formalin 10%
- d. Jaringan tuba fallopi dipilih yang terbaik, sesuai dengan yang akan diteliti.
- e. Jaringan tuba fallopi dipotong dengan ketebalan 2-3 mm

- f. Jaringan tuba fallopi dimasukkan ke kaset dan diberi kode sesuai dengan gross peneliti.
- g. Jaringan tuba fallopi dimasukkan ke larutan formalin 10% sebelum diproses/dimasukkan ke mesin *Tissue Tex Prosesor*.
- h. Diproses menggunakan mesin *Tissue Tex Prosesor* selama 90 menit
- i. Alarm berbunyi tanda selesai.

Proses Pengeblokan dan Pemotongan Jaringan

- a. Jaringan tuba fallopi diangkat dari mesin *Tissue Tex Prosesor*
- b. Jaringan tuba fallopi diblok dengan parafin sesuai dengan kode jaringan
- c. Jaringan tuba fallopi dipotong dengan alat microtome dengan ketebalan 3-5 mikron.

Proses Deparafinisasi

Slide yang berisi jaringan diletakkan dalam oven selama 30 menit dengan suhu 70 - 80 °C dan didinginkan pada suhu ruang selama 15 menit, kemudian dimasukkan ke dalam 2 tabung larutan xylol masing-masing 20 menit, setelah itu dimasukkan ke dalam 4 tabung alkohol absolut masing-masing 3 menit (hidrasi) dan yang terakhir dimasukkan dalam air mengalir selama 15 menit.

9. Prosedur Pengecatan Ekspresi ER- α dengan IHK

Prosedur pewarnaan imunohistokimia diawali dengan memanaskan sediaan hispatopatologi yang dilekatkan pada obyek glass yang tercoating Poly L-Lysine dalam inkubator suhu 40 0C selama 1 jam, lalu dideparafinasi dengan xilol I, II III masing-masing 3 menit. Sampel lalu dimasukkan dalam ethanol absolut, alkohol 90%, 80% masing-masing 3 menit. Sampel dimasukkan dalam H₂O₂ 0,5% dalam methanol selama 20 menit. Sampel dilakukan antigen retrieval

dengan cara direndam dan dipanaskan dalam Decloaking Chamber. Sampel didinginkan pada suhu ruang 30 menit dan dibilas dengan akuades. Sampel direndam dalam Phosphat Buffer Saline selama 3 menit. Slide diletakkan dalam Moisture Chamber dan pada sekeliling sediaan diberi pembatas dengan pap pen, lalu ditetesi dengan background sniper selama 10 menit. Slide ditetesi anti bodi primer dan diinkubasi selama 1jam atau *overnigt*. Selanjutnya slide dicuci dengan Phosphat Buffer Saline selama 3 menit. Slide ditetesi dengan anti bodi sekunder dan diinkubasi selama 30 menit. Slide dicuci dengan *Phosphat Buffer Saline* selama 3 menit. Slide ditetesi Trekavidin-HRP Label dan diinkubasi selama 40 menit. Slide ditetesi DAB dan diinkubasi 2 – 10 menit (1 ml Betazoid Dab Substrate Buffer ditambah 1 – 2 tetes DAB *Chromogen*). Slide dicuci dengan air mengalir 5 – 7 menit. Selanjutnya di counterstain dengan mayer haematoxilin 2 – 3 menit. Slide di rendam dalam Lithum Carbonat jenuh 3 menit. Slide dicuci dengan air mengalir 5-7 menit. Slide didehidrasi dengan alkohol 80%, 96%, alkohol absolut sampai dengan xylol I, II, III masing-masing 3 menit. Tahap selanjutnya yaitu mounting yaitu dengan entellan lalu dilanjutkan dengan pengamatan langsung melalui mikroskop.

10. Pemeriksaan Jumlah Sel Epitel Mukosa Tuba Fallopi dengan HE

a. Proses Pewarnaan Hematoksilin Eosin

Cat utama Harris Hematoksilin selama 10-15 menit, cuci dengan air mengalir selama 15 menit, alkohol asam 1 % 2-5 kali celup, amonia air 3-5 kali celup. Cat perbandingan yang digunakan adalah Eosin 1% selama 10-15 menit.

b. Dehidrasi

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

- c. Penjernihan menggunakan : Xylol selama 60 menit
- d. Mounting dengan entelan dan deckglass. Biarkan slide kering pada suhu ruangan dan setelah slide kering siap untuk diamati.
- e. Penghitungan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi dari pemeriksaan HE

Bahan yang digunakan untuk menghitung sel epitel mukosa tuba fallopi antara lain: slide jaringan tuba fallopi yang sudah diwarnai HE. Sedangkan alat untuk penghitungan jumlah sel epitel mukosa tuba menggunakan mikroskop cahaya yang memiliki kalibrasi dengan komputer dengan dilengkapi software pengelolaan *reaster image* yaitu menggunakan Dot slide mikroskop *olympus XC 10* atau *olyvia software olympus, cover glass* dan *object glass*

11. Proses penghitungan Ekspresi ER- α Sel Epitel Mukosa Tuba Fallopi

Pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan secara mikroskopis dengan menggunakan dot slide mikroskopes *olympus XC 10* atau *olyvia software olympus* terhadap preparat histopatologi tuba fallopi pembesaran 1000x pada 10 lapangan pandang, dihitung secara manual dengan bantuan *cell count* kemudian hasil perhitungan dijumlahkan dan dibagi jumlah lapang pandang, sehingga menghasilkan rata-rata jumlah epitel mukosa tuba fallopi perlapang pandang.

12. Proses penghitungan Jumlah Sel Epitel Mukosa Tuba Fallopi

Pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan secara mikroskopis dengan menggunakan dot slide mikroskopes *olympus XC 10* atau *olyvia software olympus* terhadap preparat histopatologi tuba fallopi pembesaran 1000x pada 10 lapangan pandang, dihitung secara manual kemudian hasil perhitungan dijumlahkan dan dibagi jumlah lapang pandang, sehingga menghasilkan rata-rata jumlah epitel mukosa tuba fallopi perlapang pandang.

4.10. Teknik Analisis Data

Dalam penelitian ini teknik analisis data dilakukan dengan 3 tahapan perhitungan secara berturut-turut, yaitu uji prasyarat menggunakan uji normalitas data sampel dengan uji *Shapiro-Wilk*, uji homogenitas dengan uji *Leuvene's* dan pengolahan metode dengan uji *One Way Anova*. Semua perhitungan dilakukan dengan piranti lunak (*software*) SPSS for Windows 23. Secara jelas dijelaskan dibawah ini :

4.10.1. Uji Prasyarat

Sebelum dilakukan uji hipotesa dengan analisis parametrik, maka data dianalisis terlebih dahulu dengan uji prasyarat parametrik untuk mengetahui sebaran data normal dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Pada uji ini kriteria keputusan dengan melihat nilai probabilitas kesalahan empirik pada nilai p . Jika nilai $p > 0,05$, maka disimpulkan data terdistribusi normal.

4.10.2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dalam penelitian ini menggunakan uji *Leuvene's*. Pada uji ini bertujuan untuk mengetahui homogenitas sampel dengan kriteria keputusan dengan melihat nilai probabilitas kesalahan empirik pada nilai p . Jika nilai $p > 0,05$ maka disimpulkan data adalah homogen.

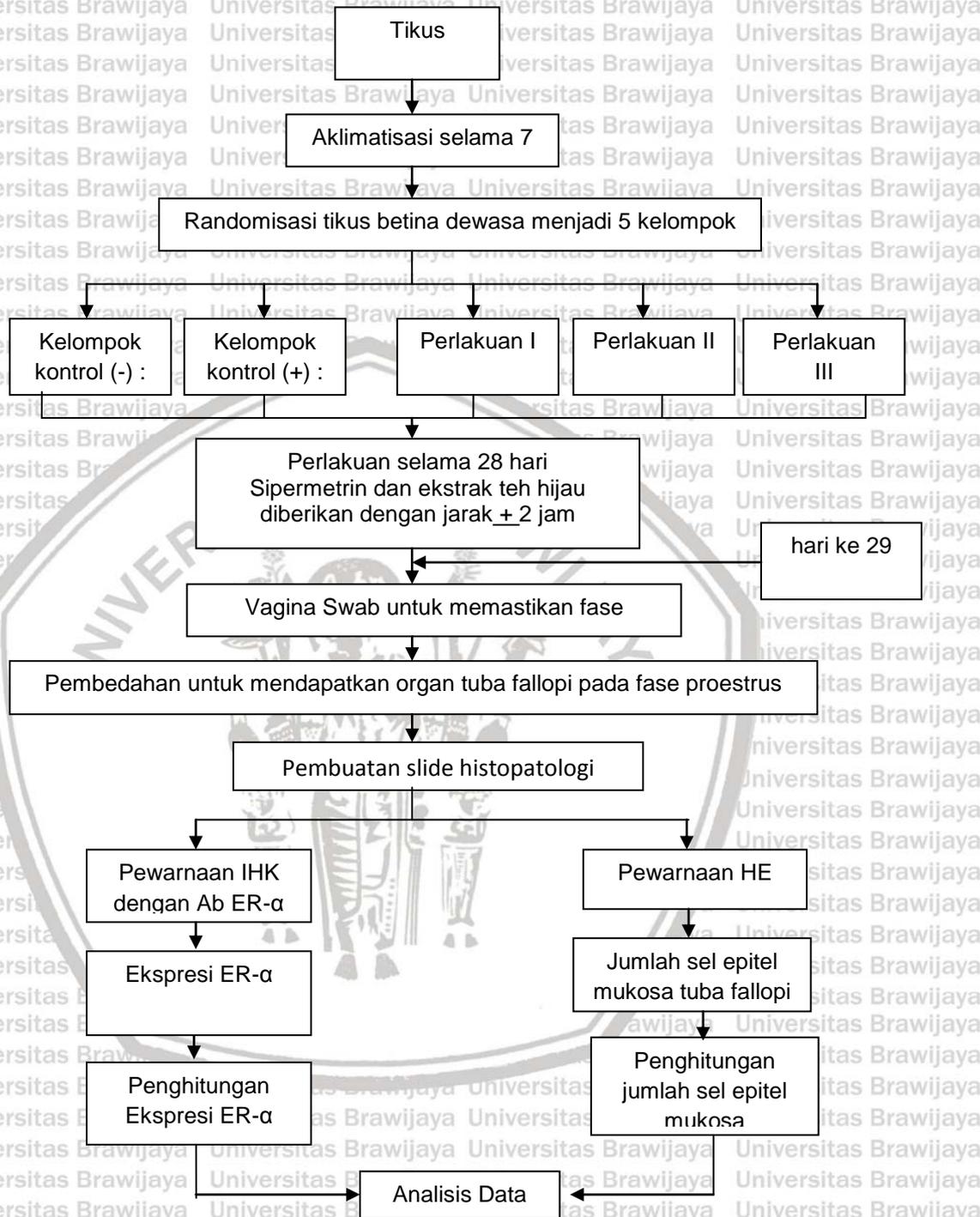
4.10.3. Uji Hipotesis

Uji hipotesis dalam penelitian ini menggunakan *One Way Anova* untuk membandingkan rerata variabel terukur antar kelompok sampel kontrol dan kelompok perlakuan. Analisis ini dilakukan terhadap data ekspresi RE- α di tuba dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi. Tujuan teknik analisis ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak teh hijau meningkatkan ekspresi RE- α di tuba dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus yang dipapar *Sipermetrin*. Jika

pada uji One Way Anova menghasilkan H_0 ditolak, maka kesimpulannya ada perbedaan yang bermakna (signifikan), maka analisis dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda, yaitu dipilih uji Beda Nyata Terkecil /BNT (*Least Significant Difference/LSD*) (Hanafiah, 2002). Tujuan digunakan uji LSD adalah untuk menemukan dosis berapa ekstrak teh hijau yang paling berpengaruh terhadap ekspresi RE- α di tuba dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi.

Untuk mengetahui adakah hubungan antara pemberian ekstrak teh hijau terhadap pencegahan penurunan ekspresi RE- α di tuba dan berkurangnya jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus yang dipapar sipermetrin dan untuk mengetahui adakah hubungan antara penurunan ekspresi RE- α di tuba dan berkurangnya jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus yang dipapar Sipermetrin, maka dilakukan uji korelasi pearson, jika nilai $p > 0,05$ maka terdapat hubungan yang bermakna antara kedua variabel yang diuji. Kekuatan korelasi (r) dan arah korelasi menunjukkan nilai positif (+) yaitu semakin besar suatu variabel maka semakin besar pula nilai variabel lainnya, sedangkan nilai negatif (-) yaitu semakin besar nilai satu variabel maka semakin kecil nilai variabel lainnya (Dahlan, 2004).

4.11. Alur Penelitian



Gambar 4.1. Skema Alur Penelitian

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1. Hasil Ekstraksi Teh Hijau

Ekstraksi teh hijau dilakukan di laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya. Ekstraksi berasal dari 100 gram simplisia teh hijau. Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak adalah etanol 96%. Bahan dan pelarut dicampur dengan perbandingan 1:9, kemudian direndam dan didiamkan selama satu malam. Proses selanjutnya dilakukan evaporasi selama 1,5-2 jam hingga larutan etanol terpisah. Hasil ekstraksi berupa pasta teh hijau sebanyak 20,5 gram. Pasta teh hijau disimpan dalam suhu 4°C untuk mempertahankan komposisi kandungannya. Saat pemberian ekstrak pada tikus, pasta teh akan dilarutkan sesuai dosis dengan menggunakan air matang. Ekstrak teh diberikan dalam dosis 7, 14 dan 28 mg/KgBB/hari.

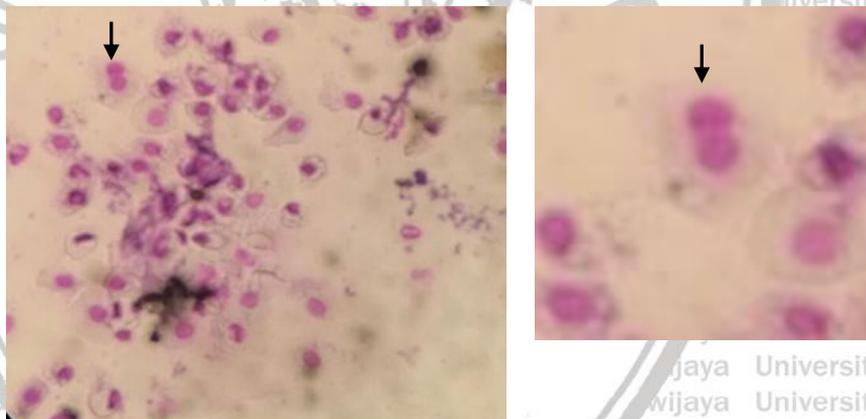
5.2. Karakteristik Subyek

Penelitian ini telah dilakukan di laboratorium Farmakologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Februari-April 2018. Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih betina dewasa jenis *Rattus norvegicus* galur Wistar yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Tikus betina didapatkan dari Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum mendapat perlakuan, tikus telah diaklimatisasi selama 8 hari. Selama perjalanan penelitian dengan pemberian perlakuan terdapat 1 tikus yang mati sehingga jumlah keseluruhan tikus 29 ekor, karena jumlah tikus tiap kelompok sebanyak 6 ekor tikus, dan jumlah minimal sampel yang diperlukan sebanyak 25 ekor tikus.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh ekstrak teh hijau terhadap ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus betina galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sipermetrin.

Tikus mendapat perlakuan dengan memberikan ekstrak teh hijau dan sipermetrin selama 28 hari. Pada hari ke 29 dilakukan swab vagina pada semua tikus untuk menentukan fase proestrus. Fase proestrus dipilih karena pada fase tersebut jumlah estrogen dalam tubuh tikus dalam kondisi tinggi. Tikus pada fase proestrus akan langsung diterminasi dengan dilakukan pembedahan.

Pemeriksaan swab vagina dilakukan 2x/hari selama 3 hari berturut-turut. Pada hari ke 29 didapatkan 8 tikus proestrus, hari ke 30 ada 10 tikus proestrus dan hari ke 31 sebanyak 11 proestrus tikus. Fase proestrus secara mikroskopis ditandai oleh sel epitel berbentuk bulat dan berinti, dapat dilihat pada Gambar 5.1



Gambar 5.1 Fase Proestrus pada Hasil Swab Vagina Tikus

Fase Proestrus ditandai oleh banyaknya sel epitel yang berbentuk bulat dan berinti (yang ditunjukkan oleh tanda panah). Pewarnaan menggunakan giemsa (Pembesaran, 40x)

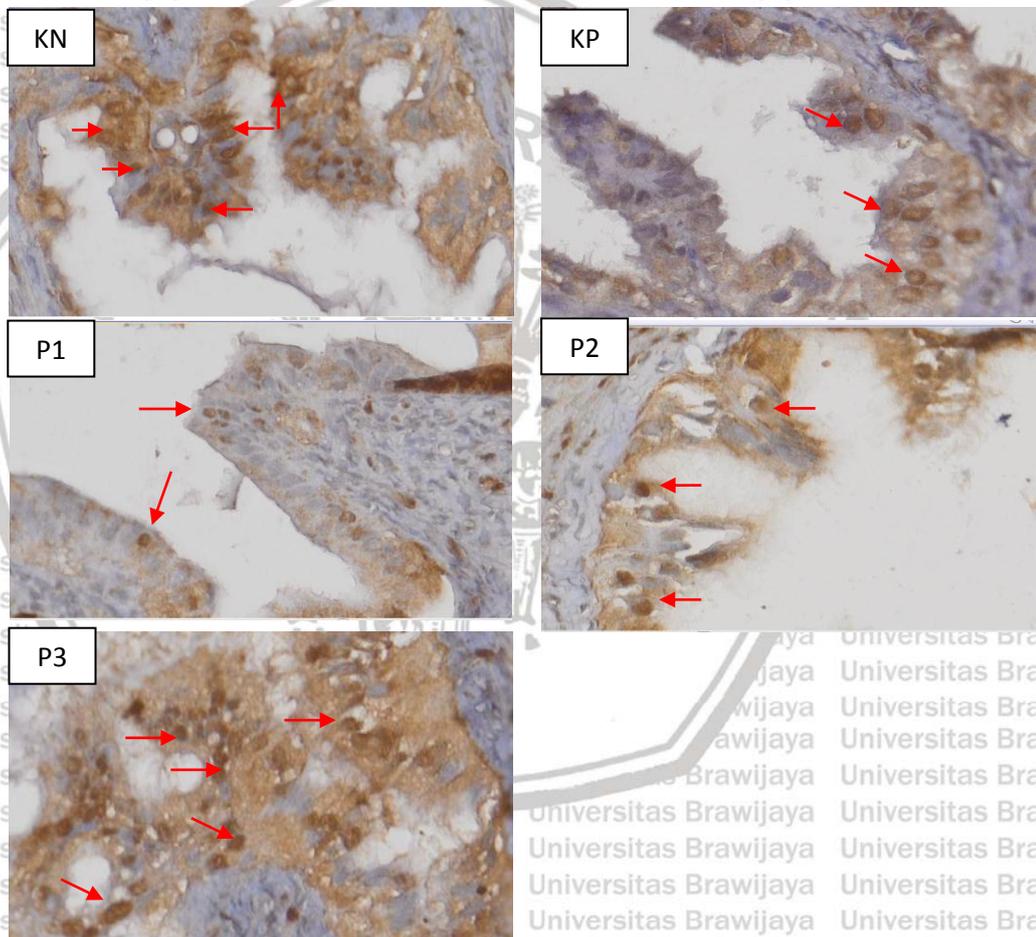
Pada saat pembedahan organ tuba fallopi diambil dan dikirim ke Lab. Patologi Anatomi FKUB untuk dilakukan pembuatan slide histopatologi kemudian dilanjutkan dengan pewarnaan Immunohistokimia yang bertujuan untuk mengamati ekspresi ER- α pada sel epitel mukosa tuba fallopi dan dilakukan

pengecatan Hematoksilin dan Eosin dengan tujuan untuk mengetahui jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi.

5.3. Hasil Penelitian Ekspresi Reseptor Estrogen α

5.3.1. Ekspresi Reseptor Estrogen- α

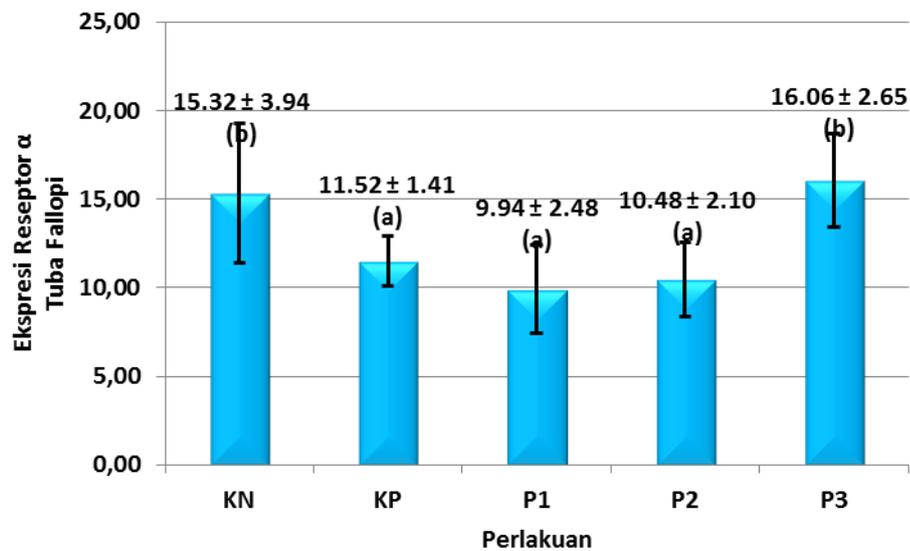
Pemeriksaan Ekspresi Reseptor Estrogen Alfa (ER- α) dilakukan dilakukan pewarnaan dengan DAB dan menggunakan antibodi ER- α (D-12): sc-8005, merk: Santa Cruz Biotechnonology, Inc, sebagaimana terlihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2. Hasil Immunohistokimia Ekspresi ER- α pada Tikus yang Dipapar Ekstrak Teh Hijau dan Sipermetrin

Tanda panah merah menunjukkan inti sel epitel mukosa tuba fallopi yang mengekspresikan ER α berwarna coklat. (IHK, pembesaran 1000x). KN negatif memiliki jumlah ekspresi ER- α lebih banyak dibandingkan KP dan P3 memiliki jumlah ekspresi ER- α lebih banyak dibandingkan KP, P1, dan P2 serta jumlahnya menyerupai KN

Jumlah ekspresi ER- α nampak pada sel epitel mukosa yang berwarna coklat yang merupakan hasil penghitungan rerata jumlah sel per lapang pandang. Kelompok kontrol negatif memiliki jumlah ekspresi ER- α yang lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol positif, sedangkan kelompok perlakuan 1 ($9,94 \pm 2,48$) yaitu kelompok paparan sipermetrin 20 mg/KgBB/hari dan ekstrak teh hijau 7mg/KgBB/hari, memiliki rata-rata ekspresi ER- α tuba fallopi yang paling rendah, sedangkan kelompok perlakuan 3 ($16,06 \pm 2,65$) yaitu kelompok paparan sipermetrin 20 mg/KgBB/hari dan ekstrak teh hijau 28mg/KgBB/hari, memiliki rata-rata ekspresi reseptor- α tuba fallopi yang paling tinggi. Data yang menggambarkan ekspresi ER- α berskala rasio, sehingga uji yang digunakan adalah uji parametrik dengan syarat data harus homogen dan berdistribusi normal



Gambar 5.3. Histogram Rerata Ekspresi ER- α pada Tuba Fallopi

Kontrol negatif berbeda signifikan dengan kontrol positif, namun tidak berbeda signifikan dengan P3. Kelompok perlakuan yakni P3 memiliki jumlah ekspresi ER α paling banyak dibandingkan kelompok lainnya, sedangkan P1 memiliki jumlah ekspresi ER α paling sedikit. Namun, antara P1, P2 dan KP tidak berbeda signifikan. (*P-value* = 0,003).

Untuk menguji apakah ekstrak teh hijau dapat meningkatkan jumlah ekspresi ER α secara signifikan atau tidak, maka dilakukan uji *One Way Anova*, yang telah memenuhi syarat uji normalitas $p=0,192$ dan homogenitas $p=0,185$. Kriteria pengambilan keputusan jika $p\text{-value} \leq 0,05$ maka ada perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Uji *One Way Anova* pada ekspresi ER- α , diperoleh nilai $p\text{-value} = 0,003$, yang berarti bahwa ada perbedaan bermakna merata ekspresi ER- α di tuba fallopi pada kelima kelompok perlakuan. Untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan rata-rata jumlah ekspresi ER- α , dilakukan uji lanjut *post hoc test* dengan menggunakan uji LSD.

Hasil uji LSD menunjukkan bahwa kelompok perlakuan 3 (sipermetrin 20 mg/KgBB/hari dan ekstrak teh hijau 28mg/KgBB/hari) memiliki jumlah ekspresi reseptor- α yang paling banyak dan berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan kontrol positif, kelompok perlakuan 1 (sipermetrin 20 mg/KgBB/hari dan ekstrak teh hijau 7mg/KgBB/hari), dan kelompok perlakuan 2 (sipermetrin 20 mg/KgBB/hari dan ekstrak teh hijau 14mg/KgBB/hari), namun berbeda tidak signifikan dengan kelompok kontrol negatif (KN).

5.3.2. Hubungan Dosis Ekstrak Teh Hijau dengan Ekspresi Reseptor Estrogen- α

Berdasarkan pengujian normalitas ekspresi ER α $p= 0,548 > \alpha (0,05)$ sehingga data ekspresi ER α dinyatakan normal, sedangkan untuk dosis ekstrak teh hijau tidak dilakukan pengujian normalitas karena jumlah dosis tetap pada setiap kelompok perlakuan, sehingga data dosis ekstrak teh hijau dinyatakan tidak normal.

Berdasarkan uji normalitas diatas, maka untuk menganalisis hubungan antara dosis ekstrak teh hijau dengan ekspresi ER α menggunakan uji korelasi Rank Spearman. Hasil uji diperoleh hasil $r = 0,718$ dan $p= 0,003$. Dari hasil

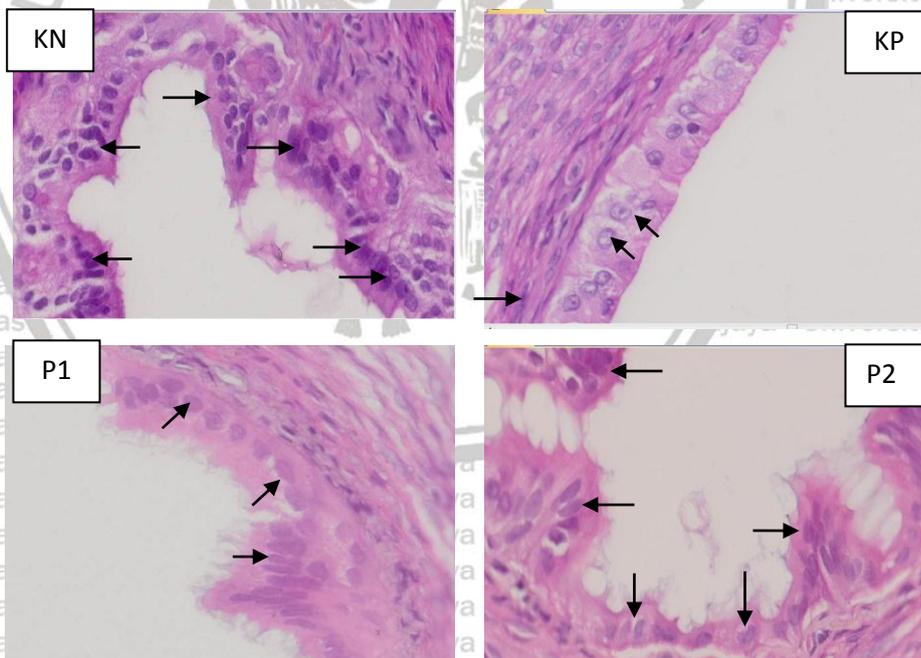
tersebut dapat diketahui bahwa $p\text{-value} < 0,005$, sehingga H_0 ditolak, yang artinya bahwa ada hubungan yang signifikan antara dosis ekstrak teh hijau dengan ekspresi ER α tuba fallopi.

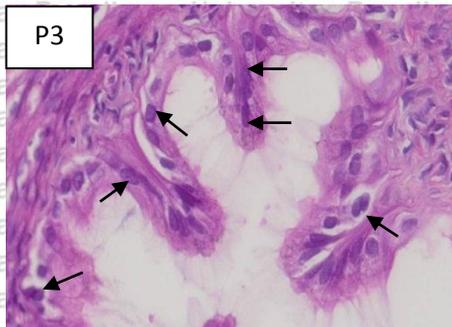
Koefisien korelasi sebesar 0,718 menunjukkan bahwa ada hubungan yang positif (searah) dan kuat antara dosis ekstrak teh hijau dengan ekspresi ER- α , yang berarti semakin tinggi dosis ekstrak teh hijau maka semakin tinggi juga ekspresi ER- α , begitu pula sebaliknya.

5.4. Hasil Penelitian Jumlah Sel Epitel Mukosa Tuba Fallopi

5.4.1. Jumlah Sel Epitel Mukosa Tuba Fallopi

Hasil pewarnaan Hematoksilin dan Eosin diamati dengan menggunakan mikroskop Olympus XC 10. Hasil Pewarnaan HE tuba fallopi tikus dapat dilihat pada Gambar 5.4 dibawah ini:

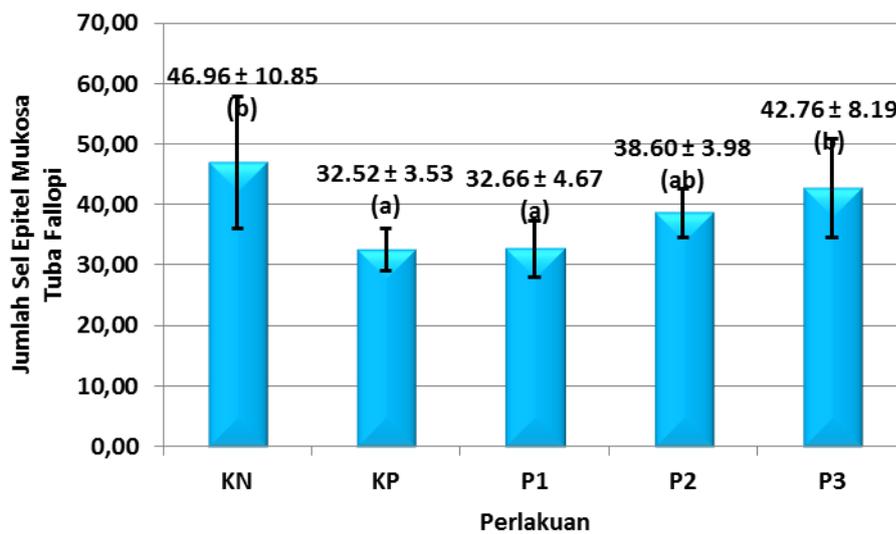




Gambar 5.4 Hasil Pemeriksaan Jumlah Sel Epitel Mukosa Tuba Fallopi pada Tikus yang Dipapar Ekstrak Teh Hijau dan Sipermetrin

Tanda panah menunjukkan sel epitel mukosa pada tuba fallopi. Tampak pada gambar kelompok KN memiliki jumlah epitel mukosa paling banyak, sedangkan KP memiliki jumlah epitel mukosa yang paling sedikit. Jumlah sel epitel mukosa P1, P2 dan P3 jumlahnya semakin bertambah seiring dengan penambahan dosis ekstrak teh hijau (HE, pembesaran 1000x)

Jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi dinyatakan dengan rata-rata jumlah sel yang dihitung per lapang pandang. Diketahui bahwa kelompok kontrol positif ($32,52 \pm 3,53$) yaitu tikus yang hanya mendapat sipermetrin 20 mg/kgBB/hari memiliki rata-rata sel epitel mukosa tuba fallopi yang paling rendah, sedangkan kelompok kontrol negatif ($46,96 \pm 10,85$) yaitu tikus yang hanya diberikan air matang memiliki rata-rata sel epitel mukosa tuba fallopi yang paling tinggi. Data jumlah sel epitel berskala rasio, sehingga uji yang dapat digunakan adalah uji parametrik dengan syarat data harus homogen dan berdistribusi normal.



Gambar 5.5. Histogram Jumlah Sel Epitel Mukosa Tuba Fallopi

Kelompok KN memiliki jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi paling banyak dibanding kelompok yang lain, sedangkan kelompok KP memiliki jumlah sel epitel mukosa paling sedikit. Pada kelompok perlakuan P3 memiliki jumlah sel epitel paling banyak bila dibandingkan P1 dan P2. Jumlah sel epitel mukosa P3 sudah mendekati KN ($p\text{-value} = 0,012$).

Untuk mengetahui pengaruh ekstrak teh hijau terhadap jumlah sel epitel mukosa tuba, akan dilakukan uji *One Way Anova* pada semua kelompok sampel, dengan memenuhi syarat uji normalitas $p=0,061$ dan homogenitas $p=0,195$. Kriteria pengambilan keputusan jika $p\text{-value} \leq 0,05$ maka ada perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Uji *One Way Anova* pada jumlah sel epitel mukosa tuba diperoleh nilai $p\text{-value} = 0,012$, yang berarti bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak teh hijau pada jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada kelima kelompok perlakuan. Untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan rata-rata jumlah sel epitel mukosa, dilakukan uji lanjut *post hoc test* dengan menggunakan uji LSD.

Hasil uji LSD menunjukkan kelompok kontrol negatif yang memiliki nilai yang paling tinggi dan berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan 1 (sipermetrin 20 mg/KgBB/hari dan ekstrak teh hijau 7mg/KgBB/hari), namun tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan 2

(sipermetrin 20 mg/KgBB/hari dan ekstrak teh hijau 14mg/KgBB/hari) dan perlakuan 3 (sipermetrin 20 mg/KgBB/hari dan ekstrak teh hijau 28mg/KgBB/hari).

5.4.2. Dosis Ekstrak Teh Hijau dengan Jumlah Sel Epitel Mukosa Pada Tuba Fallopi

Berdasarkan pengujian normalitas pada ekspresi ER α $p = 0,496 > \alpha$ (0,05) sehingga data jumlah sel epitel mukosa dinyatakan normal, sedangkan untuk dosis ekstrak teh hijau tidak dilakukan pengujian normalitas karena jumlah dosis tetap pada setiap kelompok perlakuan, sehingga data dosis ekstrak teh hijau dinyatakan tidak normal.

Berdasarkan uji normalitas diatas, maka untuk menganalisis hubungan antara dosis ekstrak teh hijau dengan jumlah sel epitel mukosa menggunakan uji korelasi Rank Spearman, didapatkan hasil koefisien korelasi 0,634 dan $p = 0,011$.

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa $p\text{-value} < 0,05$, sehingga H_0 ditolak, yang artinya bahwa ada hubungan yang signifikan antara dosis ekstrak teh hijau dengan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi.

Hasil koefisien korelasi sebesar 0,634 menunjukkan bahwa ada hubungan yang positif (searah) dan kuat antara dosis ekstrak teh hijau dengan jumlah sel epitel mukosa, yang berarti semakin tinggi dosis ekstrak teh hijau maka semakin tinggi juga jumlah sel epitel mukosa, begitu pula sebaliknya.

5.5. Hubungan Ekspresi Reseptor Estrogen- α dengan Jumlah Sel Epitel Mukosa pada Tuba Fallopi Tikus yang Dipapar Sipermetrin

Hasil uji normalitas yang telah dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk*, didapatkan $p\text{-value} = 0,192$ untuk ekspresi ER α dan $p\text{-value} = 0,061$ untuk jumlah sel epitel mukosa, hal ini dapat diartikan bahwa $p\text{-value} > 0,05$ (α), data ekspresi ER α dan jumlah sel epitel mukosa dinyatakan normal. Sehingga,

analisis hubungan antara ekspresi reseptor estrogen- α dan jumlah sel epitel mukosa dilakukan menggunakan korelasi *Pearson*.

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa pengujian hubungan antara ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa menghasilkan probabilitas 0,006, maka dapat diartikan bahwa *p-value* < 0,05 (alpha), sehingga H_0 ditolak. Oleh karena itu, dapat dinyatakan bahwa ada hubungan yang signifikan antara ekspresi reseptor estrogen- α dengan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus.

Koefisien korelasi 0,530 menunjukkan bahwa ada hubungan yang positif (searah) dan cukup kuat antara ekspresi reseptor estrogen- α dengan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi. Sehingga dapat dinyatakan, semakin tinggi ekspresi ER- α , semakin tinggi pula jumlah sel epitel mukosa pada tikus.



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Pengaruh Ekstrak Teh Hijau terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen- α pada Tuba Fallopi Tikus yang Dipapar Sipermetrin

Pada penelitian ini diketahui bahwa jumlah ekspresi ER- α pada kelompok P1 memiliki rata-rata jumlah ekspresi reseptor- α tuba fallopi yang paling rendah, diikuti oleh P2 dan KP. Namun, ketiganya tidak berbeda secara signifikan. Hal ini terjadi kemungkinan dikarenakan efek dari ekstrak teh hijau yang belum mampu menangkal radikal bebas yang disebabkan oleh sipermetrin. Efek dari ekstrak teh hijau ini dapat dipengaruhi oleh besarnya dosis yang diberikan maupun lamanya waktu paparan. Sedangkan kelompok P3 memiliki rata-rata ekspresi reseptor- α tuba fallopi yang paling tinggi. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Widowati (2017) yaitu paparan sipermetrin peroral dapat menurunkan kadar 17 β estradiol serum dan meningkatkan kadar MDA tikus. Pemberian sipermetrin peroral juga dapat menyebabkan turunnya kadar serum estradiol dan progesteron (Molavi, *et.al.*2014).

Reseptor estrogen- α umumnya ditemukan pada gonad, payudara, ginjal dan paru-paru. Reseptor ini berfungsi dalam proliferasi sel. Bila jumlah hormon estrogen berkurang atau bahkan tidak ada, reseptor estrogen akan inaktif dan berada dalam inti sel. Hormon estrogen yang masuk ke dalam sel target akan berikatan dengan reseptor estrogen yang berada di inti dan menyebabkan reseptor estrogen menjadi aktif (McDonnel & Norris, 2002).

Sipermetrin yang merupakan golongan piretroid. Penelitian pada mamalia menyebutkan, sipermetrin secara luas dan cepat didistribusikan ke banyak jaringan termasuk otak, hati, ginjal, dan terkonsentrasi pada jaringan saraf pusat dan perifer (ATSDR,2003). Konsentrasi sipermetrin yang tinggi pada otak

menyebabkan peningkatan ROS, hingga menyebabkan rusaknya sel-sel otak.

Gangguan pada sel otak menyebabkan aktivitas hipotalamus dalam memberikan sinyal untuk sekresi hormon berkurang (Sankar *et.al.*, 2010). Salah satu hormon yang terganggu pengeluarannya yaitu FSH, jumlah FSH yang menurun dapat mempengaruhi pematangan folikel dan berpengaruh pada jumlah estrogen (Kiyama, *et.al.*, 2015).

Hasil uji One Way Anova yang dilanjutkan uji LSD menyebutkan bahwa ada perbedaan bermakna rerata ekspresi ER- α di tuba fallopi pada kelima kelompok perlakuan. Kelompok P3 memiliki ekspresi reseptor- α yang paling banyak dan berbeda signifikan dengan KP, P1, dan P2, namun berbeda tidak signifikan dengan KN. Hal ini berarti ekspresi ER- α pada kelompok P3 sudah mendekati tikus pada kondisi normal. Sesuai dengan penelitian Suherlin (2017) mengatakan bahwa ekstrak teh hijau 14 mg/KgBB/hr mampu meningkatkan jumlah sel epitel sekretorik tuba fallopi dan ekspresi ER- α pada tikus yang dipapar MSG. Efek dari MSG adalah dapat meningkatkan radikal bebas didalam tubuh, sama seperti efek dari sipermetrin. Untuk mengatasi efek keduanya maka diperlukan antioksidan, salah satunya yakni teh hijau.

Teh hijau mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan kandungan polifenol yang berperan menangkal radikal bebas dan sebagai co-faktor enzim antioksidan di dalam tubuh seperti, *super okside dismutase* (SOD), *Catalase* (CAT), *glutathione peroxide* (GPx) (Ogaly *et al.*, 2015). Ekstrak teh hijau dapat menghambat radikal bebas yang terjadi pada hipotalamus akibat paparan sipermetrin, sehingga hipotalamus dapat berfungsi secara normal dalam mensekresi GnRH.

Teh hijau mengandung dua aktif komponen yaitu polifenol katekin yang menghambat aktivitas enzimatik dari catechol-o-methyltransferase dan kafein,

sehingga menyebabkan pengeluaran norepinefrin. Norepinefrin menyebabkan sekresi pulsatil GnRH melalui hipofisis vena portal. GnRH mengikat reseptornya pada sel gonadotropik yang terletak di anterior hipofisis sehingga meningkatkan kadar kalsium (dengan aktivasi fosfolipase C, D dan A). Kalsium masuk ke dalam sel-sel dengan diacetylglycerol mengaktifkan protein kinase C. Protein mengaktifkan MAPK-messenger. MAPK masuk ke inti dan mengaktifasi faktor transkripsi. Mekanisme FSH melalui aktivasi protein G, produksi cAMP, dan aktivasi protein kinase A. Kemudian, protein terfosforilasi oleh pengaruh protein kinase A dan akhirnya diproduksi hormon steroid (Mahmood, *et.al.* 2015).

6.2. Pengaruh Ekstrak Teh Hijau terhadap Jumlah Sel Epitel Mukosa pada Tuba Fallopi Tikus yang Dipapar Sipermetrin

Dari hasil penelitian disebutkan bahwa KP memiliki jumlah sel epitel mukosa yang paling sedikit. Sementara itu KN memiliki jumlah sel epitel mukosa yang paling banyak, dan rerata pada setiap kelompok perlakuan, jumlah sel epitelnya mengalami peningkatan. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Respatiningrum (2017), yang menyebutkan paparan sipermetrin per oral menyebabkan peningkatan indeks apoptosis dan penurunan ketebalan endometrium tikus.

Didalam sel target, sipermetrin mengalami pembelahan hidrolitik menghasilkan 3 phenoxybenzoid acid (3-PBCOH) hingga dapat meningkatkan ROS (Idris *et.al.* 2012). Hasil metabolisme yang terus meningkat tersebut dapat menyebabkan radikal bebas yang semakin banyak. Antioksidan endogen sebagai lini pertahanan pertama dalam tubuh pada akhirnya tidak mampu memberikan perlawanan, sehingga menyebabkan stress oksidatif hingga terjadi apoptosis sel. Meningkatnya apoptosis sel menyebabkan proliferasi sel epitel mukosa tuba fallopi terganggu.

Sipermetrin yang dapat mengenai otak sebagai organ targetnya secara langsung, menyebabkan fungsi hipotalamus tidak maksimal, sehingga berpengaruh pada pengeluaran estrogen. Padahal estrogen merupakan hormon utama yang mempengaruhi proliferasi pada sel-sel epitel mukosa tuba fallopi (Sankar et.al., 2010).

Berdasarkan uji *One Way Anova* yang dilanjutkan dengan uji *LSD* menunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak teh hijau terhadap jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada semua kelompok perlakuan. Kontrol negatif memiliki jumlah sel epitel mukosa yang terbanyak dan berbeda signifikan dengan kelompok KP dan P1, namun tidak berbeda signifikan dengan kelompok P2 dan P3. Berdasarkan hasil tersebut, maka dapat dikatakan bahwa jumlah sel epitel pada P2 dan P3 sudah mendekati jumlah sel epitel tikus dalam kondisi normal, sehingga hasil tersebut menunjukkan bahwa teh hijau mampu mencegah penurunan jumlah sel epitel mukosa pada tikus. Sesuai dengan penelitian Ali (2014) bahwa ekstrak teh hijau dosis 300 mg/KgBB dapat melindungi ovarium tikus yang dipapar MSG yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan jumlah folikel. Monosodium glutamat merupakan zat yang dapat mengakibatkan meningkatnya radikal bebas didalam tubuh bila dikonsumsi secara berlebihan.

Efek yang ditimbulkan oleh MSG ini serupa dengan efek yang dapat ditimbulkan oleh sipermetrin, sehingga ekstrak teh hijau sama-sama dapat mengurangi efek radikal bebasnya.

Teh hijau dapat berfungsi sebagai antioksidan karena kandungan katekinnya yang tinggi. Teh hijau dapat berperan sebagai *scavenging* dalam radikal bebas.

Aktivitas polifenol teh hijau lebih besar dari vitamin C atau E, sehingga mampu memberikan perlindungan terhadap radikal bebas. Polifenol yang diisolasi dari teh hijau mampu menghambat superoksida radikal (O_2^-), hidroksil radikal (OH^\cdot)

dan peroxy radikal (ROO^\cdot). Polifenol dari teh hijau ini mampu menghambat radikal bebas di semua bagian sel, dan seluruh bagian tubuh yang berbeda sebelum terjadinya kerusakan (Wu Weanbiao, 2013).

Flavonoid yang merupakan salah satu golongan dari polifenol ini, mempunyai gugus hidroksil ($^\cdot\text{OH}$) sehingga dapat menetralkan radikal bebas dengan cara donor atom hidrogen sehingga molekul non radikal yang stabil (Amic dkk., 2003). Posisi o-dihidroksi dan adanya gugus hidroksi dan keton yang bertetangga dapat membentuk kompleks dengan beberapa logam menurut Markham (1988), sehingga dapat mencegah terbentuknya radikal bebas dan peroksidasi lipid.

Berdasarkan penelitian dan teori diatas, maka dapat diketahui bahwa semakin tinggi dosis teh hijau yang dikonsumsi maka, semakin kuat juga perlawanan terhadap adanya radikal bebas didalam tubuh. Sipermetrin yang merupakan sumber prooksidan dapat dilawan dengan pendonoran atom gugus hidroksil, sehingga hasil metabolit sipermetrin berupa 3-PBCOH yang reaktif bisa menjadi stabil.

6.3. Hubungan Dosis Ekstrak Teh Hijau dengan Ekspresi Reseptor Estrogen- α dan Jumlah Sel Epitel Mukosa pada Tuba Fallopi Tikus yang Dipapar Sipermetrin

Dari hasil perhitungan korelasi *Rank Spearman*, diketahui bahwa *p-value* < 0,05, yang artinya ada hubungan yang signifikan antara dosis ekstrak teh hijau dengan ekspresi ER- α maupun antara dosis ekstrak teh dengan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi. Sedangkan, koefisien korelasi sebesar 0,718 dan 0,634 menunjukkan bahwa ada hubungan yang positif (searah) dan kuat, yang berarti semakin tinggi dosis ekstrak teh hijau maka semakin tinggi juga jumlah sel epitel mukosa, begitu pula sebaliknya.

Sadat (2015) yang menyatakan pemberian ekstrak teh hijau pada dosis 100 mg/KgBB; 200mg/KgBB dan; 400mg/KgBB dapat melindungi terhadap organ reproduksi tikus yang dipapar malathion 40mg/KgBB, ditunjukkan dengan adanya peningkatan kadar estrogen, progesteron, FSH, LH dan peningkatan jumlah folikel ovarium. Namun dosis ekstrak teh hijau yang digunakan cukup besar. Sementara itu penelitian yang dilakukan oleh Penelitian Mahmood (2015) yaitu teh hijau dapat mengurangi toksisitas dari *Cadmium Chloride* 400 mg/KgBB selama 21 hari, yang ditandai dengan peningkatan hormon FSH dan LH. Dosis teh hijau terkecil dalam penelitian tersebut yaitu 7 mg/KgBB/hr sudah signifikan mampu mengurangi efek dari *Cadmium* dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

Pada penelitian ini dosis ekstrak teh hijau yang digunakan sebesar 7 mg/KgBB/hr, 14 mg/KgBB/hr dan 28 mg/KgBB/hr. Pilihan dosis ini berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Suherlin (2017) dan Mahmood (2015). Peneliti memilih dosis ini sebagai acuan pemberian dosis teh hijau pada penelitian pengaruh ekstrak teh hijau dengan ekspresi reseptor estrogen- α dan jumlah sel epitel mukosa pada tuba tikus yang dipapar sipermetrin dengan harapan pemberian dosis terkecil sudah mampu memberikan pengaruh yang signifikan terhadap efek dari sipermetrin.

Dari hasil temuan didapatkan bahwa semakin tinggi dosis teh hijau yang diberikan, maka semakin banyak tinggi pula jumlah ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi. Pada kelompok P3 yaitu pemberian ekstrak teh hijau 28 mg/KgBB/hari sudah mampu membuat ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi seperti kondisi pada tikus normal yaitu kelompok KN. Namun belum diketahui ambang batas maksimal penggunaan dari dosis ekstrak teh hijau ini karena keterbatasan dari varian dosis teh hijau yang digunakan.

6.4. Hubungan Ekspresi Reseptor Estrogen- α dengan Jumlah Sel Epitel Mukosa pada Tuba Fallopi Tikus yang Dipapar Sipermetrin

Estrogen adalah hormon steroid yang terlibat dalam berbagai proses fisiologis di beberapa jaringan, seperti dalam sistem saraf pusat, kardiovaskular, tuba fallopi, uterus, payudara, tulang, dan hati (Tecalco-Cruz, 2017). Estrogen memainkan peran penting dalam pertumbuhan, deferensiasi dan fungsi jaringan reproduksi. Efek estrogen dimediasi melalui reseptor estrogen (ER), yang merupakan anggota hormon steroid reseptor superfamili yang mengatur transkripsi gen. (Pelletier, 2000).

Estrogen mengikat ER- α dalam sitoplasma dan/atau dalam inti, membentuk Estrogen Reseptor Elemen (ERE). Estrogen dan ER- α yang berikatan dapat menginduksi aktivasi, dimerisasi, dan fosforilasi ER- α , dan merekrut coactivators untuk memediasi transkripsi gen (Levin, 2015). Kompleks estrogen-reseptor akan berikatan dengan estrogen reseptor elemen yang terletak didekat gen yang akan dikendalikan transkripsinya. Setelah berikatan dengan ERE, kompleks tersebut akan berikatan dengan protein koaktivator dan mengaktifkan faktor transkrip. Aktivasi gen tersebut akan menghasilkan mRNA yang mengarah pada sintesis protein tertentu, yang kemudian mempengaruhi fungsi sel, tergantung sel targetnya (Zullies, 2006).

Hasil penghitungan korelasi Pearson menunjukkan hubungan antara ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa menghasilkan probabilitas 0,006.

Oleh karena itu, dapat dinyatakan bahwa ada hubungan yang signifikan antara ekspresi reseptor estrogen- α dengan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus. Sementara itu koefisien korelasi 0,530 menunjukkan bahwa ada hubungan yang positif (searah) dan cukup kuat antara ekspresi reseptor estrogen- α dengan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi. Sehingga dapat dinyatakan, semakin tinggi ekspresi ER- α , semakin tinggi pula jumlah sel epitel mukosa pada tikus.

Reseptor Estrogen- α merupakan mediator utama dari aksi estrogenik dalam jaringan tuba. Pada fase follikuler terjadi proliferasi sel epitel mukosa (Gruber et al., 2002). Sel epitel mukosa tuba fallopi terdiri dari sel epitel bersilia dan sel epitel sekretorik. Selama fase proestrus awal, sel epitel mengalami proliferasi dan terjadi peningkatan aktivitas pada sel, sel epitel ini menunjukkan perubahan berdasarkan siklus follikuler sesuai fasenya yaitu akan terlihat tinggi selama fase follikuler yang disebabkan oleh kadar estrogen dalam darah meningkat dan menjadi rendah pada saat luteal akhir. Semakin tingginya kadar estrogen ini juga membuat ekspresi ER- α semakin meningkat, sehingga proliferasi sel epitel mukosa tuba fallopi juga meningkat.

6.5. Keterbatasan Penelitian

Adapun keterbatasan dalam penelitian ini antara lain:

1. Pada penelitian ini tidak dilakukan sinkronisasi fase proestrus pada masing-masing sampel, sehingga waktu pembedahan yang dilakukan berbeda, dan dikhawatirkan akan mempengaruhi efek sipermetrin pada tikus.
2. Kurangnya variasi dosis pada penelitian ini menyebabkan sulitnya melihat tren efek ekstrak teh hijau. Pada penelitian ini hanya digunakan tiga varian dosis ekstrak teh hijau yaitu 7, 14, dan 28 mg/KgBB sehingga belum diketahui dosis maksimal dari penggunaan ekstrak teh hijau.
3. Hasil penelitian belum bisa digeneralisasikan ke manusia, karena penggunaan teh hijau pada masyarakat biasanya menggunakan teh celup atau teh rendam, bukan ekstrak teh hijau sehingga kandungan senyawa dalam teh kemungkinan berbeda.
4. Penelitian ini hanya menilai dua parameter pada tuba fallopi yang dipengaruhi oleh sipermetrin dan efek dari ekstrak teh hijau, sehingga perlu

parameter lain untuk diteliti agar diketahui pengaruh sipermetrin dan ekstrak teh hijau pada seluruh bagian tuba fallopi.



BAB 7**PENUTUP****7.1. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka didapatkan kesimpulan bahwa:

1. Ekstrak teh hijau terbukti dapat mencegah penurunan ekspresi ER- α dan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi pada tikus betina galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sipermetrin.
2. Ada hubungan yang positif (searah) dan kuat antara dosis ekstrak teh hijau dengan peningkatan ekspresi reseptor estrogen alpha dan jumlah sel epitel mukosa pada tikus.
3. Ada hubungan yang positif (searah) dan cukup kuat antara ekspresi reseptor estrogen alpha dengan jumlah sel epitel mukosa tuba fallopi tikus yang dipapar sipermetrin.

7.2. Saran

1. Disarankan dilakukan sinkronisasi fase proestrus pada tikus, agar waktu pembedahan dapat dilakukan bersamaan.
2. Perlu dilakukan uji toksisitas dengan dosis yang lebih tinggi dari 28mg/KgBB terhadap ekstrak teh hijau untuk mengetahui dosis maksimal penggunaan ekstrak teh hijau sebagai antioksidan
3. Perlu dilakukan penelitian serupa dengan menggunakan decoction teh hijau, karena cara tersebut mendekati cara pembuatan teh dimasyarakat.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak teh hijau terhadap ketebalan otot polos pada tuba fallopi tikus yang dipapar sipermetrin.

DAFTAR PUSTAKA

- Adjrah, Yao., Karou, Simplic., Agbonon, Amegnona, et.,al, 2013. Effect Cypermethrin-treated Lettuce (*Lactuca Sativa*) on Wistar Rat Liver. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, Vol.3(01): 28-132.
- Al-Hamdani, Nada M.H, Yajurvedi H.N. 2017. Effect of Cypermethrin on The Ovarian Activity and Its Impact on Fertility and Pubertal Onset Offspring. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences XXX*.
- Almeida., 2001. *Oestrus Cycle in Anatomy And Hystologi Of The Uterine Tube Of The Mongolian Gerbit*. Department of Anatomy Institute of Bioscience UNESP. Brazil.
- Amic, D., D. Beslo, N. Trinajstic, & Davidovic. 2003. Structure-Radical Scavenging Activity Relationship of Flavonoids. *Croatia Chemical Acta*. 76: 55-61
- Anjarsari. I.R.D. 2016. Katekin Teh Indonesia: Prospek dan Manfaatnya. *Jurnal Kultivasi Universitas Padjajaran*, 15(2): 99-106.
- Amir, N. 2016. *Pengaruh Sipermetrin Pada Jambal Roti Terhadap Kadar Malondialdehyda (MDA) Hati dan Ginjal Tikus Wistar (Rattus Novergicus)*. Prodising Semnas Perikanan dan Kelautan Unila 2016 ISSN xxx-xx. Vol 1, No.1.
- Angeles C. Tecaco-Cruz, Iسس A.Perez-Alvarado, Josue O. Ramirez-jarquín, dan Leticia Rocha-Zavaleta. 2017. Nucleo-cytoplasmic Transport of Estrogen Receptor Alpha In Breast Cancer Cells. *Cellular Signalling Journal*. Elsevier.
- Anindita R, Soeprobowati, T.R, Suprpti. N.H. 2012. Potensi Teh Hijau (*Camelia Sinensis*) dalam Perbaikan Fungsi Hepar Pada Mencit yang Diinduksi Monosodium Glutamat (MSG). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 20(2): 15-23
- ATSDR. 2003. Toxicological Profile For Pyrethrins And Pyrethroids.
- Badan Standarisasi Nasional. (2008). Makanan Ringan Ekstrudat. Jakarta: BSN
- Beckmann, C.R.B., 2010. *Obstetrics and Gynecology*. 6th ed. USA: Lippincot Williams & Wilkins. pp.389.
- Bobak, L.M., Lowdermilk, D.L., Jensen M.D., Perry, S.E. 2004. *Maternal Nursing* 4th ed. St. Louis, Missauri: Mosby Co.
- Bradbury, S.P. and Coats, J.R., 1989. Comparative Toxicology of The Pyrethroid Insecticides. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (pp.133-177). Spinger New York.

Bradberry, Sally, M., Cage, S.A., Proudfoot, A.T and Vale, J.A . 2005. Poisoning due to Pyrethroids. *Toxicol Rev* 24 (2): 93-106.

Bretveld, Reini, W., Thomas, Chris MG., Scheepers, Paul TJ., Zielhuis, Gerhard A., and Roeleveld, Nel. 2006. Pesticide exposure: The Hormonal Function Of The Female Reproductive System Disrupted. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2006, 4:30.

Brown, J.E., H. Khodr, R.C. Hider, C, Rice-Evans. 1998. Structural Dependence of Flavonoid Interactions with Cu²⁺ Ions: Implication for Their Antioxidant Properties. *Biochemical Journal*. 330: 1173-1178

Bulun, S.E., Cheng, Y., Pavone, M.E., Qing, X., Attar, E., 2010. Estrogen Receptor- β , Receptor- α , and Progesteron Resistance in Endometriosis. *Seminars in Reproductive Medicine*. 30 (1):39-45

Chen L, Yang X, Jiao H, Zhao B. Tea catechins protect against lead-induced ros formation mitochondrial dysfunction and calcium dysregulation in pc12 Cells. *Chem Res Toxicol* 2002; 16: 1155–61.

Cooper, R., Morre, D.J., Morre, D.M., 2005. Medicinal Benefits of Green Tea: Part I. Review of Noncancer Health Benefits. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 11(3): 522-524

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.

Dahlan, S. 2004. Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan. Edisi 1. Jakarta : PT. ARKANS

El-Mowafi, D.M., 2012. Fallopian Tube. *Reproductive Endocrinology and Infertility*. USA

Evans, P., Halliwell, B., 2001. Micronutrients: Oxidant / Antioxidant Status. *British Journal of Nutrition*. 85 (2): 67.

Fang, YZ., Yang, S., Wu, G., 2002. Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Regulation of Physiological Systems by Nutrients*. 18 (10): 872

Frei, B., Higdon JV., 2003. Antioxidant Activity of Tea Polyphenols in Vivo: Evidence From Animal Studies. *The Journal of Nutrition*. 133: 3275S–3276S

Ganong, W.F., 2010. Review of Medical Physiology. Twenty Third Edition. McGraw Hill. hal. 412 – 418

Gruber, J., Tachuguel., Schneberger, C., Hubber, J., 2002. Production and Action of Estrogen. *The New England Journal of Medicine*. 346 (5): 340-348

Gupta, S., Sekhon, L., Aziz, N., Agarwal, A., 2008. The Impact Of Oxidative Stress On Female Reproduction And Art: an Evidence-Based Review. *Infertility and Assited Reproduction*. New York. 64:178-186.

Guyton, A.C. and Hall, J.E. 2016. *Textbook of Medical Physiology. Thirteenth Edition*. University of Mississippi Medical Center. p. 1039-1046.

Halliwell and Gutteridge, 2007. Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth Edition. *Oxford University Press Inc*. hal. 42-72.

Hanafiah, K. A. 2012. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*. Edisi ketiga. Jakarta : Raja Grafindo Persada.

Harmita. 2006. *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia. Depok, pp. 144-161.

Hestiantoro, A dan Wiweko, B. 2007. *Panduan Tata Laksana Perdarahan Uterus Disfungsional*. Bandung: Himpunan Endokrinologi Reproduksi dan Fertilitas Indonesia Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia. pp. 15

Hukmah, S. 2007. *Aktivitas Antioksidan Katekin dari Teh Hijau (Cemellia sinensis O.K Var. Assamica (mast) Hasil Esktraksi dengan Variasi Pelarut dan Suhu*. Skripsi Mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Malang.

Indrayanti. 2017. *Pengaruh Paparan Cypermethrin Per Oral Terhadap Ekspresi Bcl-2 Pada Sel Granulosa dan Jumlah Folikel Antral Pada Ovarium Rattus novergicus*. Tesis Program Studi Magister Kebidanan. Universitas Brawijaya.

Idris S. B., Ambali S. F dan Ayo J.O. 2012. Cytotoxicity of chlopyrifos and cypermethrin: The ameliorative effects of antioxidants. *African Journal of Biotechnology* Vol. 11(99), pp. 16461-16467.

Khan, R.A., Khan, M.R., Sahreen, S., 2012. Brain Antioxidant Markers, Cognitive Performance and Acetylcholinesterase Activity of Rats: Efficiency of Sonchus Asper. *Behavioral and Brain Functions*. 8: 21.

Kiyama, Ryoiti., Wada-Kiyama, Yuko. 2015. Estrogenic Endocrine Disruptors: Molecular Mechanisms of Action. *Enviroment International* 83:11-40.

Kumar, S., Najafi Mohsen, Malini S. S. 2013. Association Of Obesity with Male Infertility among Infertile Couples is not Significant in Mysore, South India. *Advanced Studies in Biology*, 5 (7): 319-325.

Lushchak, V.I., 2011. Adaptive Response to Oxidative Stress: Bacteria, Fungi, Plants and Animals. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*. 153:175-190

Lyons, A.R., Saridogan, E., Djahanbakhch, O., 2006. The Reproductive Significance Of Human Fallopian Tube Cilia. *Human Reproductive Updates* 112 (4): 363-372

Mahmood, B., Mokhtar, M., Esfandiar, S., 2015. The Impact of Green Tea (Camellia Sinensis) on the Amount of Gonadotropin Hormones (LH, FSH) in Immature Female Rats Poisoned with Cadmium Chloride. *Biomedical & Pharmacology Journal*. 8 (1):265-266.

Mandel, S.A., Youdim, M.B., 2012. In the Rush for Green Gold: Can Green Tea Delay Age Progressive Brain Neurodegeneration? *Recent Pat. Recent Patents on CNS Drug Discovery*. 7 : 205-217.

Mani, V.M., Asha, S., Sadiq, A.M.M., 2014. Pyrethroid Deltamethrin-Induced Developmental Neurodegenerative Cerebral Injury and Ameliorating Effect of Dietary Glycosidenaringin in Male Wistar Rats. *Biomedicine & Aging Pathology*. 30 (1) :1-8

Marcondes, F.K., Bianchi, F.J., Tanno, A.P., 2002. Determination of Estrus Cycle Phase of Rats: Some Helpful Consideration. *Brazilian Journal of Biology*. 62 (4A) : 611-61

Markham, K.R. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoida. Terjemahan Padmawinata, K. ITB Press, Bandung.

McCarthy, Anna R., M Thomson, Barbara., Shaw, Ian C and Abella, Andrew D. 2005. Estrogenicity of Pyrethroid Insecticide Metabolites. *Journal of Environmental Monitoring*.

McDonnell, D.P. dan Norris, J.D., 2002. Connections and Regulation of the Human Estrogen Receptor. *Mapping Cellular Signaling*. 269: 1642-1643

Mitrowihardjo, S. 2012. Kandungan Katekin dan Hasil Pucuk Beberapa Klon Teh (Camelia Sinensis(L) O. Kuntze) Unggulan Pada Ketinggian yang Berbeda di Kebun Pagilaran. Disertasi Program Studi Pemuliaan Tanaman. Fakultas Pertanian. UGM. Yogyakarta.

Molavi, Morteza., Razi, Mazdak., Malekinejad, Hassan., Amniattalab, Amir., Rezaie, Hamed. Vitamin E Improved Cypermethrin Induced Damages In The Ovary Rats; Evidence For Angiogenesis And p53 Involvement. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 110:27-35.

Mylonas, I., Jeschke, U., Shabani, N., Kuhn, C., Krigel, S., Kupka, M.S., Friese, K., 2005. Normal and Maglinant Human Endometrium Express Immunohistochemically Estrogen Receptor Alpha (ER- α), Estrogen Receptor Beta (ER- β) and Progesterone Receptor (PR). *Anticancer Research*. 25:1679-1686

Ogaly, H.A., Khalaf, A.A., Ibrahim, M.A., Galal, M.K., Abd-Elsalam, R.M., 2015. Influence of Green Tea Extract on Oxidative Damage and Apoptosis

- Induced by Deltamethrin in Rat Brain. *Neurotoxicology and Teratology*.30: 1-3
- Ombelet.W, Cooke.I, Dyer.S, Serour.G, dan Devroey.P,. Human Reproduction Update. Infertility and The Provision of Infertility Medical Servicesin Developing Countries[internet].2008[cited : 2015 July 4];Vol.14:pp. 605-21. Available from : ncbi
- Pacheco,J.L., Gonsebatt, M.E., 2009. The Role of Antioxidants and Antioxidant-Related Enzymes in Protective Responses to Environmentally Induced Oxidative Stress. *Mutation Research*.674:138
- Pradani, F.Y., Mara Ipa, Rina Marina, dan Yuneu Yuliasih. 2011. Status Resistensi Aedes Aegypti dengan Metode Susceptibility di Kota Cimahi Terhadap Cypermethrin. *ASPIRATOR Journal of Vector-Bone Disease Studies*, 3 (1).
- Prawirohardjo, S. 2011. Ilmu Kandungan Edisi 3. Jakarta: PT Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. hal 424-434.
- Prayogha, P. 2012. Profil Hormon Ovari Sepanjang Siklus Estrus Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina Menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR). Skripsi. Departemen Biologi Fakultas MIPA Universitas Indonesia.
- Pribadi, G.A. 2008. Penggunaan Mencit dan Tikus Sebagai Hewan Model Penelitian Nikotin. Program Studi Teknologi Produksi Ternak. Fakultas Peternakan Universitas pertanian Bogor.
- Respatiningrum.2017. Pengaruh Paparan Sipermetrin Per Oral Terhadap Indeks Apoptosis Dan Ketebalan Endometrium Tikus Betina (*Rattus norvegicus*). Tesis Program Studi Magister Kebidanan. Universitas Brawijaya.
- Roupa, Z., Polikandrioti M., Sotiropoulou P., Faros E., Koulouri A., dan Wozniak G.,. 2009. Causes of Infertility in Women at Reproduction Age. *Health Science Journal*, 3 (2): 80-87.
- Ruder, E.H., Hartman, T.J., Blumberg, J., Goldman, M.B., 2008. Oxidative Stress and Antioxidant : Exposure and Impact on Female Fertility.*Human Reproductive Update*. 14 (4): 345-357 Sastroasmoro, S. 2011. Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis. Edisi Keempat. Jakarta: CV. Sagung Seto.
- Sankar, Palanisamy., Telang, Avinash G., Manimaran, Ayyasamy. 2010. Protective effect of curcumin on cypermethrin induced oxidative stress in wistar rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64:487-493
- Satoh, K., Sakamoto, Y., Ogata, A., Nagai, F., Mikuriya, H., Numazawa, M., Yamada, K., Aoki, N., 2002. Inhibition of Aromatase Activity by Green Tea Extract Catechins and Their Endocrinological Effects of Oral Administration in Rats. *Food and Chemical Toxicology*. 40 : 925

Sharma, Poonam., Firdous, Sumaya., Singh, Rambir. 2014. Neurotoxic Effect Of Cypermethrin And Protective Role Of Resveratrol In Wistar Rats. *Internasional Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases* Vol.4 Issue 2.

Sharpe, E., Fang, H., Schuckers, S., Andreescu, S., Bradley, R., 2016. Effects of Brewing Conditions on the Antioxidant Capacity of Twenty-Four Commercial Green Tea Varieties. *Food Chemistry*.192:380.

Shao H, Henry J. Kaplan, dan Deming Sun. 2007. Major Histocompatibility Complex Molecules on Parenchymal Cells of the Target Organ Protect against Autoimmune Disease. Immune Response and the Eye. *Immunol Allergy*. 2007, vol 92, pp 94–104.

Soraya, N. 2007. *Sehat dan Cantik Berkah Teh Hijau*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Speroff, L., Fritz, M.A. 2005. Female Infertility in : Clinical Gynecology Endocrinology and Infertility. Seventh Edition, PA : Lippincott Williams and Wilkins. Edisi 6. hal 52-66

Suherlin, I. 2017. Pengaruh Ekstrak Teh Hijau Terhadap Jumlah Sel Epitel Sekretorik dan Ekspresi Reseptor Estrogen α Tuba Fallopi Tikus Wistar Yang Dipapar Monosodium Glutamat. Tesis Magister kebidanan. Fakultas Kedokteran. UB. Malang

Sukina B, Gwenny I.P, Suhartati, Harianto N.2013. Katekin Daun Teh Hijau (Camelia Sinensis) Terhadap Malondialdehyde Dan Super Oxide Dismutase. *Indonesian Journal Of Clinical Pathology And Medical Laboratory*. Vol. 19, No. 2 Maret 2013. Hal. 92-97

Sun H, Wen Chen, Xiaolin Xu, Zhen Ding, Xiaodong Chen, and Xinru Wang. 2014. Pyrethroid and Their Metabolite, 3-Phenoxybenzoid Acid Showed Similiar (anti) Estrogenic Activity In Human And Rat Esterogen Reseptor Mediated Reported Gene Assay. *Envirotmental Toxicology and Pharmacology*, 37: 371-377.

Susanto, D., Madyawati, S.P., Mustofa, I., 2014. Pemberian *Epigallocatechin gallate (EGCG)* Terhadap Ekspresi Reseptor Estrogen pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina. *Veterinaria Medika*. 7 (1) : 57-61

Syah, A.NA., 2006. *Taklukan Penyakit Dengan Teh Hijau*. Jakarta : PT.Argomedia Pusaka.

Tsourounis C, 2004. Clinical Effects of Fitoestrogens. *Clinical Obstetriand Gynecology*. 44(4): 836-42.

Ullah, M.S., Ahmad M, N., Khan, M.Z And Ahmad, I, 2006. Toxic Effects Of Cypermethrin in Female Rabbits. *Pakistan Vet. J* 26(4): 193-196

Umami R, Dwijaya P.M, dan Winarsih S, 2014. Pengaruh Vitamin C dan E Terhadap Histologi Tuba Fallopi pada Tikus yang Dipapar MSG, *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 28(2): 63-67

USEPA.2006. Voluntary Estuary Monitoring Manual. Chapter 12: Contaminants and Toxic Chemicals Heavy metals, Pesticides, PCBs, and PAHs. Akses internet: <http://www.epa.gov/owow/estuaries/monitor/>.

WHO. 2009. The Recommended Classification of Pesticida by Hazard International Programme on Chemical Safety

Westwood, F.R., 2008. The Female Rat Reproductive Cycle: A Practical Histological Guide to Staging. *Toxicologic Pathology*. 36: 377-381

Widyaningrum, N., 2013. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) Pada Daun Teh Sebagai Anti Jerawat. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 17 (3): 95-98

Winarsi, H., 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. Potensi dan Aplikasinya Dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kansius. hal.79-81

Wiweko B, 2013. Divisi Endokrinologi Reproduksi dan Infertilitas, Departemen Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia – RS Dr. Cipto Mangunkusumo Jakarta

Wiyasa dan Soehartono., 2008. Pengaruh Isoflavon Genistein dan Daidzein Ekstrak Tokbi (*Pueraria lobata*) strain Kangean terhadap Jumlah Osteoblas dan Osteoklas *Rattus norvegicus* Wistar Hipoestrogen. Surabaya: *Majalah Obstetri Ginekologi Indonesia*. 32 (3): 11-25.

Wu Weanbiao, 2013. Green Tea Varieties, Productio and Health Benefits. New York :Nova Biomedical. hal 3-11

Yin Jie,., Becker, E.M., Andersen, M.L., Skibsted, H.L. 2012. Green Tea Extract as Food Antioxidant. Synergism and Antagonism With A-Tocopherol in Vegetable Oils and Their Colloidal Systems. *Food Chemistry*. 135: 2195-2196

Zalukhu, M.L., Phyma, A.R., Pinzon, R.T. 2016. Proses Menua, Stres Oksidatif, dan Peran Antioksidan. *CDK-245*. 43 (10): 733-736

Zuo, Y., Chen, H., Deng, Y., 2002. Simultaneous Determination of Catechins, Caffeine and Gallic Acids in Green, Oolong, Black and Pu-Erh Teas Using HPLC With A Photodiode Array Detector. *Talanta*. 57: 307

Lampiran 1: Surat Keterangan Kelaikan Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
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. 15 / EC / KEPK – S2 / 02 / 2018

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

JUDUL : Pengaruh Ekstrak Etanol Teh Hijau (*Camellia sinensis*) terhadap Ovarium, Tuba Fallopi, Endometrium, Kadar FSH dan 17 β Estradiol Serum pada Tikus Betina Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Dipapar *Cypermethrin*.

PENELITI UTAMA : Melati Puspita Sari
Ririn Handayani
Lia Sawitri
Fitria Jannatul Laili

UNIT / LEMBAGA : S2 Kebidanan - Fakultas Kedokteran - Universitas Brawijaya Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang
Ketua



Prof. Dr. dr. Moch. Istiadid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr.H.
NIK. 160746683

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan Hasil Pelaksanaan Penelitian Wajib 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 Bebas Plagiasi



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

Jalan Veteran Malang – 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (0341) 551611 Pes. 213.214; 569117, 567192 – Fax. (62) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : sekr.fk@ub.ac.id

SURAT KETERANGAN

Nomor : 291 /UN10.F08.08/PN/2018

Berdasarkan pemindaian dengan perangkat lunak Turnitin, Badan Penerbitan Jurnal (BPJ) Fakultas Kedokteran menyatakan bahwa Artikel Ilmiah berikut :

- Judul : Ekstrak Teh Hijau Meningkatkan Ekspresi Reseptor Estrogen Alpha Dan Jumlah Sel Epitel Mukosa Tuba Fallopi Yang Dipapar Sipermetrin
- Penulis : Lia Sawitri
- NIM : 166070400111020
- Jumlah Halaman : 74
- Jenis Artikel : Tesis (Program Studi Magister Kebidanan)
- Kemiripan : 3 %

Demikian surat keterangan ini agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

05 JUN 2018



Ketua Badan Penerbitan Jurnal,

Dr. Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes
NIP. 19751125 200501 2 001

Lampiran 3: Letter Of Accepted

TANDA TERIMA NASKAH
JURNAL KEBIDANAN DAN KEPERAWATAN

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Sarwinanti, M.Kep., Sp.Kep.Mat
Jabatan : Ketua LPPM Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta (Penanggungjawab Jurnal
Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta)

dengan ini menerangkan bahwa kami telah menerima *softcopy* naskah publikasi *hasil penelitian* dari:

Nama : Lia Sawitri¹
Ririn Handayani¹
Eviana Norahmawati²
Sri Winarsih³
Retty Ratnawati⁴

Institusi : ¹Program Studi Magister Kebidanan Universitas Brawijaya Malang
²Departemen Patologi Anatomi Rumah Sakit Umum Daerah Dr.
Saiful Anwar Malang
³Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
Malang
⁴Program Studi Magister Keperawatan Fakultas Kedokteran
Universitas Brawijaya Malang

Judul Publikasi Ilmiah : Ekstrak Teh Hijau Meningkatkan Jumlah Sel Epitel Tuba Fallopi
dan Endometrium Tikus Dipapar Sipermetrin

untuk dipublikasikan pada Jurnal Kebidanan dan Keperawatan 'Aisyiyah (JKKA) Universitas
'Aisyiyah Yogyakarta.

Demikian tanda terima ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 31 Mei 2018
Ketua LPPM
Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta


Sarwinanti, M.Kep., Sp.Kep.Mat

Lampiran 4 : Sipermetrin

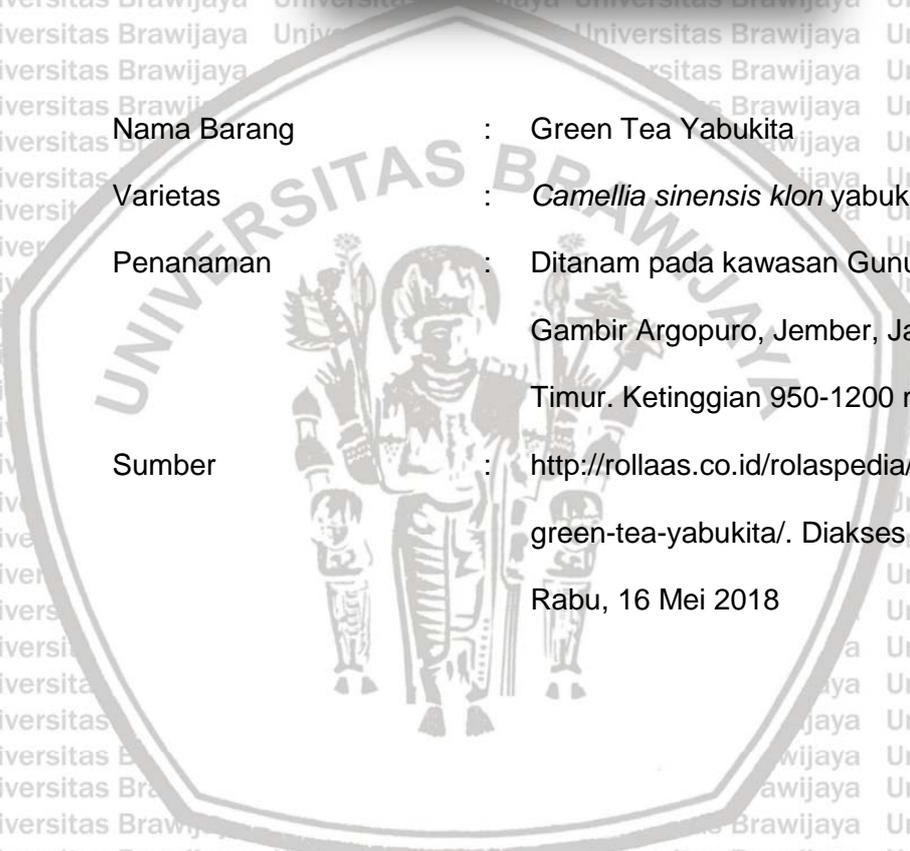


Nama Barang : Rizotin 100 EC
Kategori : Insektisida
Bahan Aktif : Sipermetrin 100 gram/l
Sasaran : Ulat gayak, kutu, kecoa, nyamuk

Lampiran 5: Teh Hijau



Nama Barang : Green Tea Yabukita
 Varietas : *Camellia sinensis klon yabukita*
 Penanaman : Ditanam pada kawasan Gunung
 Gambir Argopuro, Jember, Jawa
 Timur. Ketinggian 950-1200 m dpi
 Sumber : <http://rollaas.co.id/rolaspedia/rollaas-green-tea-yabukita/>. Diakses pada
 Rabu, 16 Mei 2018



Lampiran 6: Data sheet ER- α (D-12): sc-8005 Santa Cruz Biotechnology, INC

SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, INC.

ER α (D-12): sc-8005



The Power to Question

BACKGROUND

Estrogen receptors (ER) are members of the steroid/thyroid hormone receptor superfamily of ligand-activated transcription factors. Estrogen receptors, including ER α and ER β , contain DNA binding and ligand binding domains and are critically involved in regulating the normal function of reproductive tissues. They are located in the nucleus, though some estrogen receptors associate with the cell surface membrane and can be rapidly activated by exposure of cells to estrogen. ER α and ER β have been shown to be differentially activated by various ligands. Receptor-ligand interactions trigger a cascade of events, including dissociation from heat shock proteins, receptor dimerization, phosphorylation and the association of the hormone activated receptor with specific regulatory elements in target genes. Evidence suggests that ER α and ER β may be regulated by distinct mechanisms even though they share many functional characteristics.

REFERENCES

- Mason, B.H., et al. 1983. Progesterone and estrogen receptors as prognostic variables in breast cancer. *Cancer Res.* 43: 2985-2990.
- Evans, R.M. 1988. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 240: 889-895.
- Danielian, P.S., et al. 1992. Identification of a conserved region required for hormone dependent transcriptional activation by steroid hormone receptors. *EMBO J.* 11: 1025-1033.
- Kliwer, S.A., et al. 1992. Retinoid X receptor interacts with nuclear receptors in retinoic acid, thyroid hormone and vitamin D₃ signaling. *Nature* 355: 446-449.

CHROMOSOMAL LOCATION

Genetic locus: ESR1 (human) mapping to 6q25.1; ESR1 (mouse) mapping to 10 A1.

SOURCE

ER α (D-12) is a mouse monoclonal antibody raised against amino acids 2-185 mapping at the N-terminus of estrogen receptor α of human origin.

PRODUCT

Each vial contains 200 μ g IgG_{2b} kappa light chain in 1.0 ml of PBS with < 0.1% sodium azide and 0.1% gelatin. Also available as TransCruz reagent for Gel Supershift and ChIP applications, sc-8005 X, 200 μ g/0.1 ml.

ER α (D-12) is available conjugated to fluorescein (sc-8005 FITC), 200 μ g/ml, for IF, IHC(P) and FCM.

In addition, ER α (D-12) is available conjugated to TRITC (sc-8005 TRITC, 200 μ g/ml), for IF, IHC(P) and FCM.

STORAGE

Store at 4° C, **DO NOT FREEZE**. Stable for one year from the date of shipment. Non-hazardous. No MSDS required.

APPLICATIONS

ER α (D-12) is recommended for detection of ER α of mouse, rat and human origin by Western Blotting (starting dilution 1:200, dilution range 1:100-1:1000), immunoprecipitation [1-2 μ g per 100-500 μ g of total protein (1 ml of cell lysate)], immunofluorescence (starting dilution 1:50, dilution range 1:50-1:500), immunohistochemistry (including paraffin-embedded sections) (starting dilution 1:50, dilution range 1:50-1:500) and solid phase ELISA (starting dilution 1:30, dilution range 1:30-1:3000).

Suitable for use as control antibody for ER α siRNA (h): sc-29305, ER α siRNA (m): sc-29306, ER α siRNA (r): sc-45949, ER α shRNA Plasmid (h): sc-29305-SH, ER α shRNA Plasmid (m): sc-29306-SH, ER α shRNA Plasmid (r): sc-45949-SH, ER α shRNA (h) Lentiviral Particles: sc-29305-V, ER α shRNA (m) Lentiviral Particles: sc-29306-V and ER α shRNA (r) Lentiviral Particles: sc-45949-V.

ER α (D-12) X TransCruz antibody is recommended for Gel Supershift and ChIP applications.

Molecular Weight of ER α long isoform: 66 kDa.

Molecular Weight of ER α short isoform: 54 kDa.

Molecular Weight of ER α 6: 48 kDa.

Molecular Weight of ER α 36: 36 kDa.

Positive Controls: MCF7 whole cell lysate: sc-2206, T-47D cell lysate: sc-2293 or ZR-75-1 cell lysate: sc-2241.

DATA



ER α (D-12): sc-8005 Western blot analysis of ER α expression in non-transfected HEK293T (A), human ER α transfected HEK293T (B), MCF7 (C), T-47D (D) and SK-BR-3 (E) whole cell lysates. Note lack of reactivity in lane E (Estrogen Receptor negative cell line).

ER α (D-12): sc-8005 Immunoperoxidase staining of formalin fixed, paraffin-embedded human breast tissue showing nuclear staining of glandular cells (A). Immunoperoxidase staining of formalin fixed, paraffin-embedded human cervix tissue showing nuclear staining of subset of squamous epithelial cells (B).

SELECT PRODUCT CITATIONS

- Speir, E., et al. 2000. Competition for p300 regulates transcription by estrogen receptors and nuclear factor- κ B in human coronary smooth muscle cells. *Circ. Res.* 87: 1006-1011.
- Bacallao, K., et al. 2016. Levels of regulatory proteins associated with cell proliferation in endometria from untreated patients having polycystic ovarian syndrome with and without endometrial hyperplasia. *Reprod. Sci.* 23: 211-218.

RESEARCH USE

For research use only, not for use in diagnostic procedures.

Lampiran 7: Uji statistik

LAMPIRAN

1. Analisis Perbedaan Pengaruh Dosis Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*) terhadap Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi

Dosis	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol Negatif	15.3200	3.93662	5
Kontrol Positif	11.5200	1.40961	5
P1	9.9400	2.48455	5
P2	10.4800	2.10404	5
P3	16.0600	2.64632	5
Total	12.6640	3.54011	25

Pengujian Asumsi Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi	,138	25	,200*	,945	25	,192

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

a. Lilliefors Significance Correction

Pengujian Asumsi Homogenitas

Levene's Test of Equality of Error

Variances^a

Dependent Variable: Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi

F	df1	df2	Sig.
1.722	4	20	.185

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + X

Analisis ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	160.430 ^a	4	40.107	5.715	.003
Intercept	4009.422	1	4009.422	571.354	.000
X	160.430	4	40.107	5.715	.003
Error	140.348	20	7.017		
Total	4310.200	25			
Corrected Total	300.778	24			

a. R Squared = .533 (Adjusted R Squared = .440)

Pengujian Multiple Comparison (Post Hoc) – LSD (BNT)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi

LSD

(I) Dosis	(J) Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	3.8000*	1.67540	.035	.3052	7.2948
	P1	5.3800*	1.67540	.004	1.8852	8.8748
	P2	4.8400*	1.67540	.009	1.3452	8.3348
	P3	-.7400	1.67540	.663	-4.2348	2.7548
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	-3.8000*	1.67540	.035	-7.2948	-.3052
	P1	1.5800	1.67540	.357	-1.9148	5.0748
	P2	1.0400	1.67540	.542	-2.4548	4.5348
	P3	-4.5400*	1.67540	.013	-8.0348	-1.0452
P1	Kontrol Negatif	-5.3800*	1.67540	.004	-8.8748	-1.8852
	Kontrol Positif	-1.5800	1.67540	.357	-5.0748	1.9148
	P2	-.5400	1.67540	.751	-4.0348	2.9548

P2	P3	-6.1200*	1.67540	.002	-9.6148	-2.6252
	Kontrol Negatif	-4.8400*	1.67540	.009	-8.3348	-1.3452
	Kontrol Positif	-1.0400	1.67540	.542	-4.5348	2.4548
	P1	.5400	1.67540	.751	-2.9548	4.0348
	P3	-5.5800*	1.67540	.003	-9.0748	-2.0852
P3	Kontrol Negatif	.7400	1.67540	.663	-2.7548	4.2348
	Kontrol Positif	4.5400*	1.67540	.013	1.0452	8.0348
	P1	6.1200*	1.67540	.002	2.6252	9.6148
	P2	5.5800*	1.67540	.003	2.0852	9.0748

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 7.017.

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

Tabel 5.1 Hasil Uji LSD Ekspresi Reseptor Estrogen α

Dosis	Rata-Rata	Probabilitas					Notasi
		KN	KP	P1	P2	P3	
KN	15.32		0.035*	0.004*	0.009*	0.663	b
KP	11.52	0.035*		0.357	0.542	0.013*	a
P1	9.94	0.004*	0.357		0.751	0.002*	a
P2	10.48	0.009*	0.542	0.751		0.003*	a
P3	16.06	0.663	0.013*	0.002*	0.003*		b

p -value<0,05 adalah bermakna (*), jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna (p -value < 0,05) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna (p -value>0,05).

2. Analisis Perbedaan Pengaruh Dosis Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*) terhadap Jumlah Sel Epitel Mukosa Tuba Fallopi

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Sel Epitel Mukosa

Dosis	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol Negatif	46.9600	10.85371	5
Kontrol Positif	32.5200	3.53086	5
P1	32.6600	4.67151	5
P2	38.6000	3.98058	5
P3	42.7600	8.19317	5
Total	38.7000	8.50794	25

Pengujian Asumsi Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Sel Epitel Mukosa	,136	25	,200*	,923	25	,061

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

a. Lilliefors Significance Correction

Pengujian Asumsi Homogenitas

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Sel Epitel Mukosa

F	df1	df2	Sig.
1.676	4	20	,195

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + X

Analisis ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Sel Epitel Mukosa

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	796.976 ^a	4	199.244	4.238	.012
Intercept	37442.250	1	37442.250	796.420	.000
X	796.976	4	199.244	4.238	.012
Error	940.264	20	47.013		
Total	39179.490	25			
Corrected Total	1737.240	24			

a. R Squared = .459 (Adjusted R Squared = .351)

Pengujian Multiple Comparison (Post Hoc) – LSD (BNT)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Sel Epitel Mukosa

LSD

(I) Dosis	(J) Dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Negatif	Kontrol Positif	14.4400*	4.33651	.003	5.3942	23.4858
	P1	14.3000*	4.33651	.004	5.2542	23.3458
	P2	8.3600	4.33651	.068	-.6858	17.4058
	P3	4.2000	4.33651	.344	-4.8458	13.2458
Kontrol Positif	Kontrol Negatif	-14.4400*	4.33651	.003	-23.4858	-5.3942
	P1	-.1400	4.33651	.975	-9.1858	8.9058
	P2	-6.0800	4.33651	.176	-15.1258	2.9658
	P3	-10.2400*	4.33651	.028	-19.2858	-1.1942
P1	Kontrol Negatif	-14.3000*	4.33651	.004	-23.3458	-5.2542
	Kontrol Positif	.1400	4.33651	.975	-8.9058	9.1858
	P2	-5.9400	4.33651	.186	-14.9858	3.1058
	P3	-10.1000*	4.33651	.030	-19.1458	-1.0542



P2	Kontrol Negatif	-8.3600	4.33651	.068	-17.4058	.6858
	Kontrol Positif	6.0800	4.33651	.176	-2.9658	15.1258
	P1	5.9400	4.33651	.186	-3.1058	14.9858
	P3	-4.1600	4.33651	.349	-13.2058	4.8858
	P3	Kontrol Negatif	-4.2000	4.33651	.344	-13.2458
Kontrol Positif		10.2400*	4.33651	.028	1.1942	19.2858
P1		10.1000*	4.33651	.030	1.0542	19.1458
P2		4.1600	4.33651	.349	-4.8858	13.2058

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 47.013.

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

Hasil Uji LSD Jumlah Epitel Mukosa Tuba Fallopi

Dosis	Rata-Rata	Probabilitas					Notasi
		KN	KP	P1	P2	P3	
KN	46.96		0.003*	0.004*	0.068	0.344	b
KP	32.52	0.003*		0.975	0.176	0.028*	a
P1	32.66	0.004*	0.975		0.186	0.03*	a
P2	38.6	0.068	0.176	0.186		0.349	ab
P3	42.76	0.344	0.028*	0.03*	0.349		b

p -value < 0,05 adalah bermakna (*), jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna (p -value < 0,05) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna (p -value > 0,05).

3. Analisis Hubungan Dosis Ekstrak Etanol Teh Hijau (*Camellia sinensis*) dengan Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi

Asumsi Normalitas Data

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi	.148	15	.200*	.951	15	.548
Dosis	.269	15	.005	.776	15	.002

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

a. Lilliefors Significance Correction

Analisis Korelasi Rank Spearman

Correlations

			Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi	Dosis
Spearman's rho	Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi	Correlation	1.000	.718**
		Coefficient		
		Sig. (2-tailed)	.	.003
		N	15	15
	Dosis	Correlation	.718**	1.000
		Coefficient		
		Sig. (2-tailed)	.003	.
		N	15	15

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

4. Analisis Hubungan Dosis Ekstrak Etanol Teh Hijau (*Camellia sinensis*) dengan Jumlah Sel Epitel Mukosa

Asumsi Normalitas Data

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Sel Epitel Mukosa	.112	15	.200*	.948	15	.496
Dosis	.269	15	.005	.776	15	.002

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

a. Lilliefors Significance Correction

Analisis Korelasi Rank Spearman

Correlations

		Sel Epitel Mukosa	Dosis
Spearman's rho Sel Epitel Mukosa	Correlation Coefficient	1.000	.634*
	Sig. (2-tailed)	.	.011
	N	15	15
	<hr/>		
Dosis	Correlation Coefficient	.634*	1.000
	Sig. (2-tailed)	.011	.
	N	15	15

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

5. Analisis Hubungan Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi dengan Jumlah Sel Epitel Mukosa dengan Asumsi Normalitas Data

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Sel Epitel Mukosa Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi	.136	25	.200*	.923	25	.061
	.138	25	.200*	.945	25	.192

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

a. Lilliefors Significance Correction

Analisis Korelasi Pearson

Correlations

		Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi	Sel Epitel Mukosa
Ekspresi Reseptor α Tuba Fallopi	Pearson Correlation	1	.530**
	Sig. (2-tailed)		.006
	N	25	25
Sel Epitel Mukosa	Pearson Correlation	.530**	1
	Sig. (2-tailed)	.006	
	N	25	25

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Lampiran 8: Dokumentasi penelitian

Proses Maserasi Ekstrak Teh Hijau



Proses perendaman teh hijau



Proses evaporasi



Proses pengenceran teh hijau sesuai dosis

Pemeliharaan, Pemberian Perlakuan dan Pembedahan Tikus



Penomoran tikus sebelum dilakukan aklimatisasi



Penimbangan BB tikus dilakukan setiap minggu



Pembuatan makanan tikus



Pemberian sipermetrin melalui sonde lambung



Pemberian teh hijau melalui sonde lambung sesuai dosis



Pembedahan



Pengambilan organ

Pelaksanaan Swab Vagina Tikus



Mengambil apusan lendir vagina tikus



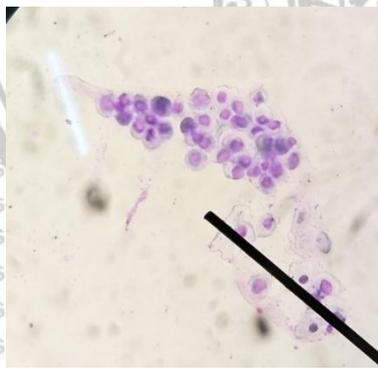
Mengusapkan apusan vagina tikus pada slide yang telah diberi label



Merendam slide pada larutan giemsa



Membaca hasil swab vagina



Hasil swab vagina yang menunjukkan fase proestrus

Pengecatan Hematoksilin dan Eosin



Jaringan dalam cassate yang sudah diblok parafin



Mesin mikrotom



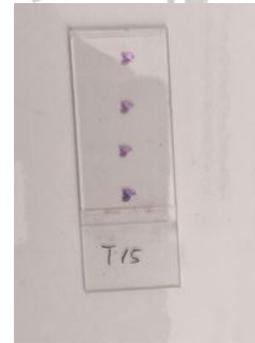
Proses pengecatan utama menggunakan Harris Hematoksilin



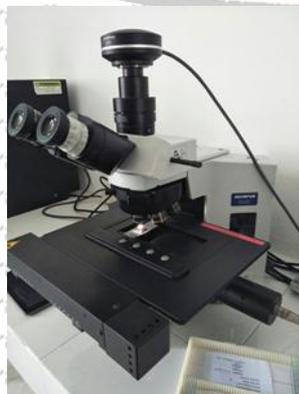
Larutan alkohol dan xylol



Proses pengeringan dan pemasangan cover glass



Hasil dari pengecatan HE

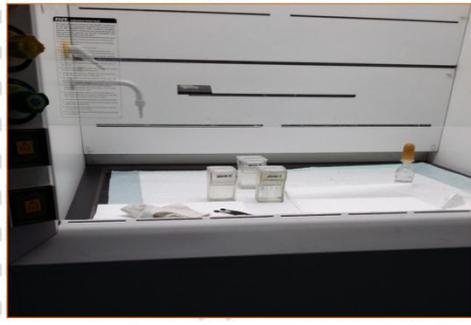


Mikroskop xc 10 untuk pengamatan

Proses Immunohistokimia



Inkubasi 1 jam



Deparafinasi



Alkohol bertingkat



Immunostaining Kit



Antigen Retrieval



Hasil IHK



Pengamatan dengan mikroskop

Lampiran 9: Riwayat Hidup

RIWAYAT HIDUP

Lia Sawitri, lahir di Balikpapan 17 Juli 1987 anak ketiga dari tiga bersaudara, putri dari Bapak Kaspani dan Ibu Sri Mahainingsih. Istri dari Andrian Yudha

Laksana dan Ibu dari Muhammad Saddam Al Fatih.

Lulus SDN 3 Semboro tahun 2000, lulus SLTPN 4

Tanggul tahun 2003 dan lulus SMAN 1 Jember tahun

2006. Tahun 2006 melanjutkan pendidikan Diploma III

Kebidanan di Poltekkes Kemenkes Malang lulus pada tahun 2009. Kemudian

melanjutkan Diploma IV Bidan Pendidik tahun 2010 di Poltekkes Kemenkes

Malang lulus tahun 2011. Pada tahun 2016 mengambil pendidikan program studi

Magister Kebidanan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Tahun 2010 sampai sekarang bekerja di Akademi Kebidanan dr. Soebandi

Jember

