

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Pemberian Berbagai Dosis Ekstrak Air Daun Kelor terhadap Kadar SOD Uterus Tikus Wistar.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa secara deskriptif rata – rata kadar SOD kelompok kontrol positif (diberikan DMPA) menurun dibandingkan kelompok kontrol negatif namun secara statistik kadar SOD tidak berbeda secara signifikan.

Hal ini disebabkan karena penggunaan DMPA dapat menekan pelepasan GnRH sehingga menekan sekresi LH preovulatorik dan menekan ovulasi, karena ovulasi dihambat, kadar progesteron dalam serum tetap rendah (<0,4 ng/ml) selama beberapa bulan setelah penyuntikan. Disamping itu DMPA juga menekan LH melewati sirkulasi. Estradiol rata-rata 50 pg/ml pada fase mid folikuler dini setelah penyuntikan DMPA, kadar estradiol serum mulai meningkat 4 bulan setelah 1 kali penyuntikan DMPA, ketika kadar DMPA turun < 0,5 ng/ml. Namun pada wanita yang telah menggunakan DMPA selama beberapa tahun, kadar serum estradiol bisa mencapai level terendah hingga 10 pg/ml (Cunningham *et al.*, 2005; Hartanto, 2003; Prawirohardjo, 2003; Varney *et al.*, 2006; Mishell, 2006).

FDA (*Food Drug Administration*) menyatakan bahwa perlu perhatian khusus bagi pemakaian jangka panjang DMPA (> 24 bulan) apabila kontrasepsi yang lain tidak cocok atau tidak adekuat bagi akses KB (FDA, 2004). Pada penelitian ini lama pemaparan DMPA pada tikus apabila dikonversi dengan waktu pada manusia adalah 1 tahun sehingga radikal bebas yang disebabkan oleh DMPA masih dapat dikompensasi oleh uterus sehingga kadar SOD di uterus kontrol positif tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif.

Penggunaan kontrasepsi progestin dapat menghambat kemampuan 17β -estradiol (E2) (Irwin, *et al.*, 2011). Estradiol merupakan salah satu golongan estrogen yang dapat meningkatkan mekanisme perlindungan antioksidan, perokidasi lipid, menginduksi proliferasi uterus (Irwin, *et al.*, 2011). Pada penelitian Razali (2008) menunjukkan bahwa pengguna KB DMPA selama 1-2 tahun didapatkan rata-rata kadar estradiol darah $78,69 \pm 29,76$ pg/ml dan pengguna KB DMPA selama 3-5 tahun adalah $54,23 \pm 21,07$ pg/ml dimana secara statistik tidak dijumpai hubungan bermakna. Kadar estradiol ini berkisar dalam fase folikuler. Tidak ada hubungan bermakna kadar estradiol pada pengguna KB DMPA 1-2 tahun dan pengguna KB DMPA 3-5 tahun mungkin menyebabkan kadar SOD uterus yang dipapar DMPA pada penelitian ini tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif, karena kadar SOD dipengaruhi oleh hormon estrogen. Ketika hormon estrogen menurun dan ikatan dengan reseptor estrogen rendah maka akan menurunkan aktivasi jalur sinyal intraseluler MAPK sehingga terjadi penurunan aktivasi NF κ B dan aktivasi transkripsi gen SOD menurun (Vina *et al.*, 2005).

Estrogen bekerja melalui reseptor estrogen. Estrogen memiliki 2 reseptor yaitu ER α dan ER β . Pada semua tipe sel endometrium dapat ditemui reseptor estrogen. Perubahan-perubahan yang terjadi pada sel endometrium pada tiap siklus menstruasi, mencerminkan perubahan-perubahan siklik pada estradiol yang menyebabkan peningkatan ekspresi reseptor estrogen dan progesteron yang menyebabkan penurunan ekspresi reseptor estrogen (Firtz dan Speroff, 2005). Perubahan konsentrasi estrogen mewujudkan efek struktural dan fungsional dalam tuba falopi, rahim dan organ sasaran lainnya. Intensitas reseptor estrogen lebih banyak pada glandula epitel endometrium dari pada tuba falopi (Amso, 1994; Hegazy, 2015) Di tuba falopi dan uterus, ER α ditemukan dalam inti sel epitel dari stroma dan sel otot dan ER β tidak terdeteksi pada tuba falopi dan

uterus sedangkan pada ovarium, terdeteksi ER α dan ER β . Pada mencit yang kekurangan ER β menunjukkan perkembangan uterus dan saluran telur yang normal, namun kesuburan berkurang dan kehamilan serta persalinan masih berlangsung normal. ER α adalah reseptor yang sangat penting yang memediasi efek estrogen ke uterus yang ditunjukkan pada tikus yang kekurangan ER α menunjukkan atrofi pada ovarium dan uterus (Pelletier, 2000). Tidak terdapat reseptor ER β pada uterus mungkin menyebabkan kadar SOD uterus yang dipapar DMPA pada penelitian ini tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif karena kadar SOD dipengaruhi oleh hormon estrogen dan estrogen bekerja melalui reseptor estrogen.

Pemberian DMPA dapat menurunkan pertahanan antioksidan seperti MnSOD dan menyebabkan hipoestrogen. Hipoestrogen yang disebabkan karena penggunaan DMPA juga dapat meningkatkan kerentanan terhadap perubahan oksidatif yang dipicu oleh H₂O₂ dan mengakibatkan peroksida lipid. Disamping itu DMPA juga dapat menghambat sistem antioksidan yang diberikan oleh hormon ovarium sehingga dapat memperburuk kerentanan terhadap stres oksidatif (Irwin, *et al.*, 2011). Estrogen sering dihubungkan mempunyai efek antioksidan karena mampu meningkatkan ekspresi enzim antioksidan seperti SOD. Estrogen dalam konsentrasi fisiologis ditemukan menjadi antioksidan yang kuat untuk mencegah terbentuknya radikal bebas (Borras *et al.*, 2006). Rendahnya estrogen dapat menyebabkan penurunan aktivitas SOD yang mengakibatkan peningkatan akumulasi O₂^{•-}. Radikal bebas yang terakumulasi dapat menghambat SOD dan menurunkan enzim GPx dan CAT. Penurunan enzim – enzim tersebut dapat menyebabkan peningkatan hidrogen peroksida yang mengakibatkan terjadinya inaktivasi SOD (Mushusami, 2005). Menurut penelitian Veri *et al.*, (2015) bahwa kadar SOD ovarium menurun signifikan pada ovarium tikus yang dipapar DMPA selama 28 hari.

SOD merupakan enzim antioksidan yang bertanggung jawab untuk mengkonversi O_2^- menjadi hydrogen peroksida (H_2O_2). SOD dapat melindungi sel dari kerusakan atau kematian yang disebabkan efek berbahaya dari radikal bebas (Hu *et al.*, 2005). SOD dikelompokkan menjadi tiga yaitu Cu/ ZnSOD (SOD1) yang berada pada sitoplasma, MnSOD (SOD2) yang ditemukan di mitokondria, dan ecSOD (SOD3) pada ekstraseluler yang semuanya membutuhkan Cu dan Mn untuk aktivasi. Bukti terbaru bahwa di setiap lokasi subseluler terdapat SOD (SODs). SODs juga memainkan peran yang penting dalam mencegah disfungsi endotel dan mitokondria. Semua kelompok SOD walaupun terdapat pada lokasi yang berbeda namun mengkatalisis reaksi yang sama yaitu mengkatalisis O_2^- menjadi H_2O_2 . SOD merupakan antioksidan endogen yang efektif dalam melindungi dari stres oksidatif (Fukai, 2011; Ghubory, 2012).

SOD1 memiliki karakteristik 32 kDa, homodimer, kofaktor metal (Cu^{2+} / katalitik) lokasi di sitosol dan jumlah lebih kecil adalah pada *inter membran space* (IMS) pada mitokondria. SOD1 juga dilaporkan pada nukleus, lisosom, peroksisom dengan menggunakan metode immunohistokimia. SOD1 memiliki distribusi yang luas pada semua sel. Pada gen manusia SOD1 terletak pada region 21q22.1 pada kromosom 21. SOD2 memiliki karakteristik 96 kDa, homotetramer, kofaktor metal adalah Mn^{3+} katalitik, terletak di matrik mitokondria. SOD3 memiliki karakteristik 135 kDa, *homotetrameric secretory glycoprotein*, lokasi di matrik ekstraseluler, permukaan sel dan jumlah yang lebih kecil terdapat pada plasma dan cairan ekstraseluler. SOD3 biasanya terdapat pada jaringan pembuluh darah, paru-paru, ginjal, rahim dan hati. SOD3 dalam jaringan diperkirakan sekitar 90%-99% dari SOD3 dalam tubuh. SOD3 terutama disintesis oleh vaskular sel otot polos dan fibroblast dan disekresikan ke matrik ekstraseluler dan permukaan sel endotel dengan mengikat heparin sulfat

proteoglikan (HSPGs), kolagen dan fibulin (Fukai dan Ushio Fukai, 2011). Pada semua jaringan terdapat SOD. Setiap organ tikus memiliki aktivitas SOD yang berbeda, pada hati terdapat aktivitas SOD yang paling tinggi selanjutnya diikuti aktivitas SOD pada kelenjar adrenal, ginjal, limpa, pankreas, otak, paru-paru, lambung, usus, ovarium, timus dan lemak (Aridiani dan Winahyu, 2007).

Kadar SOD dilakukan pengukuran dengan kolorimetri dengan membandingkan optical density sampel dengan kurva standar. Hasil yang didapatkan pada kadar SOD dinyatakan dalam U/mL. Kolorimetri adalah metode perbandingan menggunakan perbedaan warna. Metode kolorimetri mengukur warna suatu zat sebagai perbandingan. Biasanya cahaya putih digunakan sebagai sumber cahaya untuk membandingkan absorpsi cahaya relatif terhadap suatu zat. Salah satu faktor utama dari metode kolorimetri adalah intensitas warna yang harus proporsional dengan konsentrasinya (J. Bassett *et al.*, 1991).

Selanjutnya rerata kadar SOD meningkat pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak Daun kelor dengan dosis 100 mg/kgBB (P1) dan dosis 200 mg/kgBB (P3). Sedangkan pada dosis 150 mg/kgBB (P2) justru terjadi penurunan kadar SOD.

Kelor memiliki fungsi antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas karena kandungan polifenol seperti flavonoid dan fenol. Polifenol pada daun kelor memiliki kemampuan antioksidan yang tinggi dan alami yang utama yang melindungi agen dari efek stres oksidatif, melindungi dari kerusakan oksidatif pada DNA, menangkap radikal bebas serta menghambat peroksida lipid/kerusakan lemak yang dapat menyebabkan apoptosis (Sestili *et al.*, 1998; Lako *et al.*, 2007; Kanatt, 2007; Moyo *et al.*, 2012). Polifenol merupakan antioksidan yang mempunyai kapasitas dan sifat antioksidan yang sangat kuat yang mampu melindungi dari stres oksidatif dan penyakit degeneratif dan memberi perlindungan secara tidak langsung dengan mengaktifkan sistem pertahanan

endogen dan memodulasi proses sinyal seluler (Han *et al.*, 2007) Fenol memiliki aktivitas antioksidan dengan memberikan elektron yang baik, mengakhiri reaksi berantai radikal dengan mengkonversi radikal bebas menjadi produk yang stabil serta menyerap untuk menetralkan radikal bebas dan mengurai dan menghambat peroksida lipid karena fenol memiliki sifat reduksi dan konjugasi struktur ring dan karboksil (Siddhuraju dan Becker, 2003; Adedapo *et al.*, 2008; Oyedemi, Bradley dan Afolayan, 2010). Kandungan fenol, terutama yang paling banyak adalah kandungan glikosida yang banyak larut dalam air dan ethanol (Bravo, 1988). Flavonoid bersama-sama dengan antioksidan vitamin dan enzim dapat menjadi antioksidan yang melindungi tubuh dari kerusakan sel dan penyakit akibat stress oksidatif (Winarsi, 2014). Hal ini didukung pada penelitian lamau menunjukkan dosis 100 dan 200 dapat meningkatkan kadar SOD secara signifikan (Lamau *et al.*, 2016). Namun pada dosis 150 mg/kg BB ekstrak air daun kelor tidak berdampak pada penurunan kadar SOD hal ini mungkin dipengaruhi beberapa faktor yaitu dosis paparan ekstrak air daun kelor yang diberikan yang tidak sesuai dan jumlah sampel yang kurang besar.

Berdasarkan hasil penelitian diatas, maka hipotesis pada penelitian ini tidak terbukti, artinya tidak ada perbedaan pengaruh pemberian berbagai dosis ekstrak air daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) dengan kadar SOD pada uterus Tikus Wistar yang dipapar DMPA.

6.2 Pengaruh Pemberian Berbagai Dosis Ekstrak Air Daun Kelor terhadap Indeks Apoptosis Endometrium Tikus Wistar.

Dari hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemaparan DMPA akan meningkatkan indeks apoptosis pada endometrium secara signifikan. Pada kelompok kontrol positif (DMPA) memiliki rata-rata indeks apoptosis meningkat dan memiliki notasi huruf yang berbeda dengan kelompok kontrol negatif yang menunjukkan adanya peningkatan indeks apoptosis secara signifikan pada kelompok Kontrol positif.

DMPA memiliki mekanisme menekan pelepasan GnRH sehingga kadar LH juga menurun. Selain itu DMPA juga akan menekan lonjakan LH melalui sirkulasi. Apabila suntikan DMPA dimulai dalam lima hari sejak awal menstruasi, maka efek kontrasepsi akan muncul dengan cepat karena ovulasi tidak akan terjadi pada bulan pertama, namun apabila suntikan mulai diberikan lebih dari lima hari setelah menstruasi, maka klien harus menggunakan metode kontrasepsi penunjang selama beberapa minggu karena kemungkinan ovulasi tidak dapat dicegah pada bulan pertama tersebut (Cunningham, 2005; Hartanto, 2003; Prawirohardjo, 2003; Varney *et al.*, 2006; Mishell, 2006; Lizarelli *et al.*, 2009; Thurman dan Soper, 2006). Karena ovulasi ini ditandai oleh lonjakan sekresi LH dihipofisis dan kunci dari terjadinya ovulasi adalah efek peningkatan estrogen dan efek umpan balik positif estrogen pada sekresi LH pada pertengahan siklus (Heffner dan Schust, 2008).

Pengukuran indeks apoptosis adalah dengan immunohistokimia tunnel karena indeks apoptosis melihat pada sel yang mengalami apoptosis dan pada immunohistokimia tunnel assay ada prosedur pemberian kromagen DAB yang memberikan warna coklat pada inti sel yang mengalami fragmentasi DNA (Roche, 2004). Apoptosis adalah mekanisme genetik yang terprogram yang

memungkinkan sel untuk bunuh diri sehingga terjadi kematian sel. Proses kematian sel sangat penting untuk kelangsungan hidup organisme banyak sel dengan menyingkirkan sel yang rusak atau terinfeksi yang dapat mengganggu fungsi normal, perkembangan dan mencegah dari transformasi onkologi (Portt *et al.*, 2011). Apoptosis adalah bentuk kematian sel yang diatur secara genetik dan digambarkan dengan membran blebbing (pengerumbungan membran sel), penyusutan sel, kondensasi kromatin, dan fragmentasi DNA (Renehan *et al.*, 2001).

Penggunaan DMPA dapat menyebabkan penurunan produksi estradiol pada ovarium (Bronshtein *et al.*, 2012). Hipoestrogen secara tidak langsung dapat meningkatkan radikal bebas dan akumulasi radikal bebas dapat menginduksi stres oksidatif dan menyebabkan kerusakan dan apoptosis sel (Hu *et al.*, 2005; Bae *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2010). Stres oksidatif yang disebabkan karena peningkatan radikal bebas dapat menyebabkan kromosom tidak stabil dan apoptosis sel (Asadi *et al.*, 2012). Disamping itu stres oksidatif yang disebabkan DMPA juga menyebabkan peningkatan kerusakan DNA (*7-8-dihydro-8-oxoguanine/8-oxoG*) (Krikun *et al.*, 2010).

DMPA dapat secara langsung menyebabkan apoptosis pada endometrium, dimana penggunaan DMPA dalam jangka waktu yang panjang akan menyebabkan peningkatan radikal bebas dan peningkatan radikal bebas akan menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif menginduksi apoptosis jalur intrinsik, hal ini menyebabkan gangguan pada mitokondria dan terjadi pelepasan sitokrom c dari intermembran mitokondria kemudian berikatan dengan Apaf-1 membentuk CARD, kemudian CARD bergabung membentuk apoptosom. Apoptosom kemudian mengikat pro-caspase 9 dan mengaktifkan menjadi caspase 9 (caspase inisiator). Caspase 9 akan mengaktifkan procaspase-3 menjadi caspase 3. Caspase 3 teraktivasi yang menyebabkan degradasi

kromosom DNA, aktivasi protease, degradasi nukleus dan protein-protein sitoskeletal, kondensasi kromatin dan sitoplasmik, fragmentasi nukleus selanjutnya terbentuklah *apoptotic body*. Selanjutnya sel *apoptotic body* memberi signal “eat me” sehingga terjadi tahap fagositosis dan fagosit bisa dilakukan oleh makrofag atau sel tetangga dari sel yang mengalami apoptosis (Portt *et al.*, 2011; CCRV Farmasi UGM).

Pada Tabel 5.2 menunjukkan rata-rata kadar SOD P2 lebih rendah dari P1 dan P3 yaitu 1,97 U/ml dan pada tabel 5.3 menunjukkan rata-rata indeks apoptosis P2 lebih tinggi dari P1 dan P2 sebesar 40,36%.

Hal ini sesuai dengan teori bahwa apoptosis juga dapat terjadi apabila terjadi penurunan tingkat SOD dan akumulasi radikal bebas (Hu *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2010). Penggunaan kontrasepsi progestin dapat merugikan pertahanan antioksidan dengan menurunkan aktivitas/ ekspresi MnSOD (Irwin *et al.*, 2011). SOD merupakan enzim antioksidan yang dapat menghambat apoptosis dan bekerja dengan mengkatalisis O_2^- menjadi H_2O_2 (Hu *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2010). H_2O_2 yang toksik akan diuraikan menjadi O_2 menjadi H_2O oleh katalase. GPx mengkatalisis reduksi hidroperoksida oleh glutathion (Lamau *et al.*, 2016). Apabila H_2O_2 bereaksi dengan $Fe^{2+}/ e^-/ H^+$ maka akan menjadi radikal bebas (Muchtadi, 2013). Radikal reaktif hidroksil yang bereaksi dengan asam lemak tak jenuh ganda akan membentuk radikal lipid. Radikal lipid yang bereaksi dengan molekul oksigen akan berubah menjadi radikal lipid peroksil. Apabila radikal lipid tidak direduksi oleh antioksidan, maka akan terjadi proses peroksida lipid (Winarsi, 2007).

DMPA dapat menginduksi apoptosis pada sel endotel endometrium manusia (Choksuchat *et al.*, 2009; Lizarelli *et al.*, 2009). Penggunaan kontrasepsi progestin dalam jangka waktu yang lama menyebabkan peningkatan radikal bebas yang memicu stres oksidatif (Krikun *et al.*, 2002). Radikal bebas yang

berlebihan akan merangsang kerusakan oksidatif pada biomolekul yang penting seperti DNA, lipoprotein, dan lipid sehingga menyebabkan apoptosis sel (Yasdanparast dan Ardestani).

Selanjutnya menurut Jain *et al.*, (2006) bahwa pada hari ke 14 stroma endometrium mengalami peningkatan apoptosis secara bermakna setelah dipapar DMPA, dan pada kelenjar tidak terjadi peningkatan apoptosis secara bermakna. Pada penelitian ini untuk pengamatan apoptosis adalah pada stoma, kelenjar, pembuluh darah serta epitel endometrium.

Penggunaan DMPA untuk hormon terapi pada wanita akan memicu terjadinya apoptosis, menurunkan usia hidup pada sel neuron, meningkatkan apoptosis hingga 40 % pada sel saraf otak (Nilsen *et al.*, 2009). Sangat sedikit/tidak ada jaringan endometrium pada hasil biopsi akseptor lama DMPA (Hartanto, 2004). Disamping itu DMPA juga dapat mempengaruhi histologi endometrium setelah suntikan pertama dan kedua pada akseptor yang menggunakan DMPA yaitu digambarkan dengan histologi endometrium yang atrofi, penurunan kepadatan microvaskuler, penipisan epitel endometrium, penipisan dan fragilitas kelenjar dan dinding pembuluh darah sehingga menimbulkan gangguan perdarahan, gangguan perdarahan yang abnormal inilah yang menyebabkan banyak akseptor KB menghentikan pemakaian kontrasepsi progestin jangka panjang (Krikun *et al.*, 2002; Simbar, 2007; Choksuchat *et al.*, 2009; Lizarelli *et al.*, 2009). Hal ini juga sesuai dengan penelitian dari Veri *et al.*, (2015) bahwa DMPA yang dipapar selama 28 hari pada tikus secara signifikan meningkatkan apoptosis pada jaringan endometrium dan ovarium.

Pada Tabel 5.3 dapat dilihat bahwa p-value sebesar 0.007 atau $p < 0,05$ artinya terdapat pengaruh yang signifikan pemberian berbagai dosis ekstrakair daun kelor terhadap indeks apoptosis. Dan berdasar pada hasil uji LSD 5 % menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air daun kelor dosis 100 mg/kg BB (P1)

dan dosis 200 mg/kg BB (P2) dapat menurunkan indeks apoptosis pada tikus yang dipapar DMPA secara signifikan, sedangkan pada P3 menunjukkan bahwa tidak mempengaruhi indeks apoptosis secara signifikan.

Berdasarkan hasil uji korelasi yang dapat dilihat pada Tabel 5.4 didapatkan p-value sebesar 0.012 yang menunjukkan bahwa pemberian berbagai dosis ekstrak air daun kelor dengan indeks apoptosis mempunyai hubungan yang signifikan. Koefisien korelasi bernilai -0.550 memiliki pengertian bahwa ada hubungan relatif cukup kuat antara pemberian berbagai dosis ekstrak air daun kelor dengan indeks apoptosis. Koefisien korelasi bernilai negatif menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak daun kelor yang diberikan, akan diikuti penurunan apoptosis

Pada beberapa penelitian menunjukkan efek antioksidan dari kelor ditimbulkan oleh beberapa komponen senyawa aktif yang terkandung didalamnya. Berdasarkan penelitian Lamau *et al.*, 2016 menunjukkan bahwa ekstrak air daun kelor mempunyai sifat antioksidan dengan meningkatkan aktivitas kadar SOD, CAT, GPx pada semua kelompok perlakuan. Ekstrak air daun kelor memiliki aktivitas dalam menangkal radikal bebas dan aktivitas antioksidan yang diuji dengan uji DPPH (Sidduraju dan Becker, 2003; Khalafalla *et al.*, 2010). Disamping dapat menangkal radikal bebas ekstrak air daun kelor juga mampu mencegah dari kerusakan biomolekuler dan perlindungan dari kerusakan oksidatif (Sreelatha dan Padma, 2009). Kelor memiliki kandungan polifenol dan antioksidan kuat tertinggi, vitamin, mineral, asam amino esensial lengkap dan kandungan senyawa lainnya (Krisnadi, 2015). Kandungan vitamin, mineral dan asam amino esensial tersebut sangat berguna dalam regenerasi sel (Tilong, 2012; Farooq *et al.*, 2012). Polifenol dapat menghambat peroksida lemak dan apoptosis hati, menangkap radikal bebas, menurunkan jumlah radikal bebas dan memutus rantai pembentukan peroksida lipid pada tahap inisiasi dan

propagasi serta sebagai antiapoptosis melalui kadar caspase-3 yang bertahan pada kondisi normal sehingga sel terlindungi dari kematian maupun apoptosis akibat stres oksidatif (El-Beshbishy, *et al.*, 2011).

Kandungan daun kelor yang juga memiliki peran penting sebagai antioksidan adalah flavonoid. Komponen bioaktif fenol utama daun kelor yang termasuk golongan flavonoid adalah *quercetin* yang mempunyai kemampuan mengikat atom atau sebagai penangkal radikal bebas sehingga tidak terbentuk ROS yang berlebihan (Adewole *et al.*, 2006). Disamping itu juga flavonoid mempunyai peran dalam menghentikan reaksi berantai radikal bebas (Bamishaiye *et al.*, 2011; Lakshminarayana *et al.*, 2011).

Berdasarkan hasil penelitian diatas, maka hipotesis terbukti yaitu ada perbedaan pengaruh dan hubungan antara pemberian berbagai dosis ekstrak air daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk) terhadap indeks apoptosis pada endometrium Tikus Wistar yang dipapar DMPA.

6.3 Korelasi Kadar SOD dengan Indeks Apoptosis

Dari hasil penelitian juga diketahui bahwa secara statistik hubungan antara kadar SOD dengan indeks apoptosis, didapatkan p-value sebesar 0.019 ($p < 0,05$) artinya kadar SOD dengan indeks apoptosis mempunyai hubungan yang signifikan dengan koefisien korelasi bernilai -0.466 memiliki pengertian bahwa ada hubungan sedang antara kadar SOD dengan indeks apoptosis. Koefisien korelasi bernilai negatif menunjukkan bahwa peningkatan kadar SOD yang diberikan, akan diikuti penurunan apoptosis.

Hal ini sesuai dengan teori bahwa DMPA melalui sirkulasi menekan GnRH sehingga sekresi LH preovularik dan menekan ovulasi. Setelah penyuntikan DMPA kadar estradiol rata-rata 50 pg/ml namun pada pengguna DMPA yang telah menggunakan DMPA beberapa tahun kadar estradiol bisa

mencapai level terendah hingga 10 pg/ml (Cunningham *et al.*, 2005; Hartanto, 2003; Prawirohardjo, 2003; Varney *et al.*, 2006; Mishell, 2006).

Pemberian DMPA dapat menyebabkan hipoestrogen. Hipoestrogen yang disebabkan karena penggunaan DMPA juga dapat meningkatkan kerentanan terhadap perubahan oksidatif yang dipicu oleh H_2O_2 dan mengakibatkan peroksida lipid (Irwin *et al.*, 2011). Estrogen memiliki efek antioksidan dan mempunyai kemampuan untuk meningkatkan ekspresi enzim antioksidan seperti SOD dan GPx (Borras *et al.*, 2006). Estradiol tidak berperan sebagai antioksidan kimia, namun lebih berperan dalam meningkatkan ekspresi gen enzim antioksidan SOD dan GPx di dalam mitokondria. Pada studi *in vitro* menggunakan jaringan kelenjar payudara menunjukkan kerja estradiol melalui interaksi dengan reseptor estrogen dengan alur transduksi sinyal meliputi ikatan estrogen dengan reseptor estrogen, fosforilasi MAPK, aktivasi NFkB dan akhirnya terjadi *upregulasi* gen antioksidan (Vina *et al.*, 2005). Rendahnya estrogen menyebabkan penurunan aktivitas enzim SOD yang mengakibatkan peningkatan akumulasi O_2^- . Akumulasi radikal bebas tersebut tidak hanya menghambat SOD tetapi juga menyebabkan penurunan enzim GPx dan CAT (Muthusami, 2005).

SOD mengkonversi O_2^- menjadi H_2O_2 , selanjutnya H_2O_2 dirubah menjadi O_2 dan H_2O oleh katalase. GPx merubah H_2O_2 menggunakan glutation dan menghasilkan GSSH, kemudian dirubah kembali menjadi GSH oleh enzim glutathione reductase dengan dibantu NADPH (Hanukoglu, 2006). H_2O_2 merupakan oksidan non radikal dan apabila H_2O_2 bereaksi dengan $Fe^{2+}/ e^-/ H^+$ maka akan berubah menjadi radikal bebas (radikal reaktif hidroksil/ reaksi fenton) (Muchtadi, 2013). Radikal reaktif hidroksil memisahkan elektron dari asam lemak tak jenuh ganda (RH) dan menimbulkan radikal lipid. Radikal lipid yang bereaksi dengan molekul oksigen maka berubah menjadi radikal lipid peroksil. Jika radikal

lipid peroksidasi tidak direduksi oleh antioksidan, maka akan terjadi peroksida lipid (Winars, 2007).

Apoptosis dapat terjadi karena adanya peningkatan peroksida lipid yang disebabkan karena stres oksidatif (Sharma *et al.*, 2012). Radikal bebas dapat menginduksi modifikasi oksidatif makromolekuler seluler, menghambat fungsi protein dan meningkatkan apoptosis (Circu dan Tak, 2010). DMPA dapat menginduksi apoptosis pada sel endotel endometrium manusia (Choksuchat *et al.*, 2009; Lizarelli *et al.*, 2009). Penggunaan DMPA dalam jangka waktu yang panjang juga dapat memicu peningkatan apoptosis pada ovarium (Tasdemir *et al.*, 2009). Disamping itu penggunaan DMPA dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan berbagai macam permasalahan kesehatan bahkan penyakit degeneratif (Bronshstein *et al.*, 2012).

Penelitian dapat diaplikasikan dimasyarakat untuk memberikan penyuluhan kepada akseptor DMPA tentang manfaat ekstrak air daun kelor untuk mengatasi keluhan misalnya gangguan menstruasi yang disebabkan DMPA dan menerapkan penggunaan ekstrak air daun kelor untuk mengatasi keluhan dan efek samping yang terjadi khususnya gangguan menstruasi pada akseptor KB DMPA, ekstrak air daun kelor dengan dosis 100 mg/kg BB tikus apabila dikonversi dengan dosis pada manusia adalah 5,6 gram/kg BB manusia per hari selama menggunakan DMPA. Pada akseptor KB DMPA yang sudah menggunakan lebih dari 24 bulan perlu adanya perhatian khusus apabila metode kontrasepsi yang lain tidak cocok, namun apabila ada kontrasepsi yang cocok perlu diberikan informasi untuk mengganti kontrasepsi DMPA dengan metode kontrasepsi yang lain apabila penggunaannya sudah lebih 2 tahun karena hal itu akan berpengaruh pada berbagai macam masalah kesehatan bahkan penyakit degeneratif.

Keterbatasan Penelitian adalah meneliti indeks apoptosis pada endometrium secara keseluruhan yaitu pada stroma, kelenjar, epitel dan pembuluh darah, hal ini berbeda dengan penelitian Jain et al., (2006) yang membedakan antara indeks apoptosis pada stroma dan indeks apoptosis pada kelenjar serta jumlah sampel yang kurang banyak, diharapkan penelitian dengan membedakan indeks apoptosis pada stroma dan indeks apoptosis pada kelenjar dan menambahkan jumlah sampel sehingga standar defiasi menjadi lebih kecil serta waktu paparan DMPA yang lebih lama untuk melihat kadar SOD dan indeks apoptosis.