

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Pengaruh Pemberian Ekstrak Maserasi Teh Hijau Terhadap Kadar SOD Ovarium *Rattus norvegicus* yang Dipajan MSG

Hasil data yang telah didapatkan dari penelitian ini menunjukkan bahwa tikus yang dipajan dengan MSG memiliki kadar SOD yang lebih rendah dibandingkan dengan tikus yang tidak dipajan dengan MSG dan ekstrak maserasi teh hijau.

Macharina (2011) menyebutkan bahwa monosodium glutamat dapat menyebabkan *excitotoxin* yaitu terbentuknya molekul beracun yang merangsang sel-sel saraf sehingga menyebabkan kematian sel. Farombi dan Onyema (2006), pemberian MSG 4 mg/g BB secara interperitoneal dapat menyebabkan keadaan stres oksidatif yang menimbulkan senyawa oksigen reaktif (ROS). Penelitian yang dilakukan oleh Singh (2002) menyatakan bahwa pemberian MSG pada mencit jantan selama enam hari berturut-turut pada dosis 4 dan 8 mg/grBB, secara signifikan dapat meningkatkan enzim pemicu radikal bebas yaitu *Xantin Oksidase*, namun aktivitas enzim penangkal radikal bebas seperti katalase dan SOD mengalami penurunan yang signifikan pada jaringan hati.

Dalam ovarium, ROS diproduksi oleh korpus luteum setelah ovulasi; menghasilkan progesteron, yang sangat diperlukan untuk keberhasilan proses kehamilan serta merupakan faktor kunci untuk reproduksi. Ketika kehamilan tidak terjadi, korpus luteum mengalami regresi. Proses ini dapat terjadi karena adanya peningkatan ROS dan dihambat oleh antioksidan. Proses ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang kompleks antara ROS dan antioksidan didalam ovarium. Peningkatan produksi steroid dalam folikel yang berkembang dapat menyebabkan peningkatan P_{450} , yang menghasilkan pembentukan ROS. ROS yang dihasilkan

oleh folikel pada saat pra ovulasi dianggap sebagai faktor pemicu penting terjadinya ovulasi (Agarwal, *et al.* 2012).

Ovulasi merupakan suatu proses yang sangat penting pada awal reproduksi. Ovulasi dimulai dengan terjadinya lonjakan LH. LH mempunyai peranan penting dalam perubahan fisiologis yang mengakibatkan terjadinya pelepasan ovum yang matang. Setelah lonjakan LH yang meningkat, LH juga berperan sebagai prekursor dalam menghasilkan ROS, sebaliknya penurunan kadar prekursor dapat mengganggu ovulasi (Agarwal, *et al.*2012).

Penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar SOD ovarium secara signifikan pada tikus yang di berikan ekstrak maserasi teh hijau dengan dosis 0.7 mg dan dosis 1.4 mg. Hal ini menunjukkan bahwa kedua dosis ekstrak maserasi teh hijau tersebut dapat meningkatkan kadar SOD Ovarium pada tikus yang dipajan MSG.

Pada penelitian ini peneliti memakai teh hijau dikarenakan teh hijau memiliki kandungan zat-zat sumber antioksidan, selain itu teh hijau banyak terdapat di masyarakat dan cara penggunaanya dapat dilakukan oleh masyarakat secara mandiri. Pemilihan metode maserasi dilakukan guna menghindari kerusakan katekin yang terkandung di dalam teh hijau.

Teh hijau dikenal dengan aktivitas antioksidan dengan menghambat ROS, hidroksil, peroksil dan anion superoksida radikal sebagai penghambat enzim oksidatif. Polifenol yang terdapat didalam teh hijau juga mampu meningkatkan aktifitas SOD (Mosbah *et.a*,2015; Rashidinejad *et al.*, 2016)

Penelitian yang dilakukan oleh Cabrera, Artacho dan Gimenez., 2006, bahwa *catechin* yang terkandung dalam teh hijau merupakan komponen antioksidan yang mampu menurunkan stres oksidatif yang dimediasi oleh peroksidasi lipid, disfungsi endotel dan meningkatkan pertahanan antioksidan

endogen. Melalui aktivitasnya secara *in vitro* dengan cara menangkap oksigen reaktif.

Katekin memiliki aktivitas antioksidan selain melalui penangkapan radikal bebas (ROS) juga dengan jalan membentuk khelat dengan ion logam yang mengaktifkan sistem redoks, menghambat faktor transkripsi yang peka terhadap redoks, menghambat enzim prooksidan dan menginduksi enzim antioksidan. Mekanisme penangkapan radikal bebas melalui delokalisasi elektron, pembentukan intra dan intermolekul ikatan hidrogen, menyusun ulang struktur molekul dan khelat logam yang berperan dalam oksidasi. Gugus hidroksi fenolik dari katekin merupakan elektron donor yang potensial dan efisien menangkap radikal bebas seperti anion superoksid, oksigen singlet, NO dan peroksi nitrit (Babu, 2008).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan terdapat hubungan yang kuat antara pemberian ekstrak maserasi teh hijau terhadap kadar SOD ovarium pada tikus yang dipajan MSG.

Pemberian teh hijau yang tinggi katekin dapat meningkatkan enzim antioksidan. Senyawa ini dapat membantu kinerja enzim SOD yang berfungsi menyingkirkan radikal bebas di dalam tubuh (Syah, 2006). Pemberian katekin pada dosis yang berbeda dapat menurunkan peroksidasi lipid, mengatur pembentukan ROS dengan cara menghambat enzim-enzim prooksidan, serta menginduksi enzim-enzim antioksidan seperti SOD, CAT, GPX (Frei and Higdon, 2003; Yamabe, *et al.*, 2006; Agarwal, *et al.*, 2010).

Pada penelitian ini didapatkan bahwa pada dosis teh hijau 2.8 mg/ml ternyata menyebabkan kadar SOD ovarium menurun. Hal ini disebabkan karena selain polifenol yang terkandung didalam teh hijau, teh hijau juga mengandung komponen-komponen lain seperti kafein, asam galat dan theaflavin. Pemberian zat aktif *Epigalocatechin galate (EGCG)* yang terlalu tinggi dapat mempengaruhi

penurunan ikatan reseptor hormon estrogen pada *Rattus norvegicus*. Penurunan reseptor estrogen dapat menyebabkan terjadinya penurunan kadar SOD (Susanto, 2014).

Penelitian Idhayu, 2006 yang mengatakan apabila mengkonsumsi teh hijau pada dosis yang terlalu tinggi, maka kandungan kafein yang terdapat pada teh hijau dapat menyebabkan insomnia, takikardi, kecemasan, tremor dan diuresis, serta dapat mempengaruhi metabolisme zat besi sehingga menyebabkan anemia mikrositik.

6.2. Pengaruh Pemberian Ekstrak Maserasi Teh Hijau terhadap Apoptosis Sel Granulosa Folikel Ovarium *Rattus norvegicus* yang Dipajan MSG

Hasil data yang telah didapatkan dari penelitian ini menunjukkan bahwa pada tikus yang dipajan dengan MSG jumlah sel granulosa yang mengalami apoptosis lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang tidak dipajan dengan MSG dan ekstrak maserasi teh hijau.

Penelitian Lindeman, 2002 menyebutkan pemberian MSG jmenyebabkan peningkatan dan pelepasan sel granulosa dari membran basalis, terdapat degnrerasi sel diantar sel granulosa, merusakkan pada sel tehca dan degenerasi dari ovum. Gangguan hormonal akibat pengaruh dari MSG dapat menyebabkan gangguan produksi hormon FSH dan LH sehingga proses perkembangan folikel terganggu dan menjadi atretik. Jika sejak awal perkembangan folikel terganggggu maka tahap selanjutnya akan semakin terganggu. Secara tidak langsung gangguan produksi hormon akan mempengaruhi struktur histologi ovarium.

Penelitian yang dilakukan oleh Eweka AO dan Om'Iniaboh's (2007) menyatakan bahwa pemberian MSG pada tikus Wistar dengan dosis 6 gr ternyata dapat menyebabkan beberapa perubahan pada gambaran histologis

ovarium berupa hipertrofi sel, dan degenerasi serta atrofi pada lapisan sel granulosa, sehingga pemberian dosis MSG yang lebih tinggi akan memberikan pengaruh terhadap perkembangan oosit bahkan infertilitas, monosodium glutamat juga berefek toksin terhadap oosit dan folikel di dalam ovarium. Penelitian sejalan dengan dengan Beyreutehr, (2007) yang mengatakan bahwa monosodium glutamat menyebabkan lesi di bagian *nucleus arkuata hipotalamus* pada mencit yang akan menyebabkan beberapa perubahan pada sistem reproduksi, termasuk inhibisi perkembangan folikel di dalam ovarium.

Infertilitas adalah salah satu gangguan pada sistem reproduksi. faktor-faktor yang dapat menyebabkan infertilitas adalah faktor kuantitas ovarium (kuantitas, dan kualitas oosit), umur, volume ovarium, jumlah folikell antral, jumlah folikel atresia dan petanda hormon seperti FSH, estradiol, dan inhibin B. Kualitas folikel itu sendiri dinilai dari diameter folikel, struktur sel oosit dan granulosa (Metawie and Mouselly, 2003)

Sel folikel yang mengalami atresia biasanya mengalami kerusakan yang terjadi pada sel granulosa dan oosit. Jika banyak folikel yang mengalami kerusakan maka tidak dapat diproduksi lagi, karena jumlah folikel primodial pada ovarium memiliki jumlah yang terbatas. Apoptosis pada sel granulosa mempunyai peran penting dalam proses terjadinya atresia folikel. Terjadinya atresia folikel merupakan cara alami tubuh untuk mengeliminasi folikel yang tidak normal. Mekanisme terjadinya apoptosis pada sel granulosa di pengaruhi oleh molekul untuk mempertahankan kehidupan sel granulosa dan dapat menyebabkan terjadinya apoptosis. *Caspase* merupakan molekul efektor utama yang menginduksi apoptosis dalam ovarium. *Caspase* diinduksi melalui mekanisme apoptosis intrinsik dan ekstrinsik (Dumitrescu *et al.*, 2015; Matsuda-minehata, *et.al.*, 2006; Elmore, 2009).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada dosis teh hijau 0.7 mg/ml dan dosis 1.4 mg/ml terdapat hubungan yang signifikan antara ekstrak maserasi teh hijau dengan jumlah sel granulosa folikel ovarium yang mengalami apoptosis, Jumlah sel granulosa folikel ovarium yang apoptosis pada tikus yang dipajan MSG yang mengalami penurunan. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh El-Beshbishty *et al*,.2011 menunjukkan bahwa polifenol yang terdapat dalam teh hijau mampu menurunkan peroksidasi lipid dan apoptosis pada liver. Polifenol teh hijau berperan sebagai penangkap radikal bebas, yang bisa menurunkan jumlah radikal bebas dan memutus rantai pembentukan peroksidasi lipid pada tahap insiasi dan propagasi. Polifenol teh hijau mampu menurunkan peroksidasi lipid secara signifikan pada tikus yang dipajan dengan AZA (Azathioprine). Polifenol teh hijau dapat mencegah permeabilitas membran dan menurunkan kadar radikal hidroksil endogen dengan mencegah kerusakan oksidatif akibat peroksidasi lipid dan oksidasi protein. Peran polifenol teh hijau sebagai antiapoptosis adalah dengan mempertahankan *Caspase-3* dalam kondisi normal sehingga dapat melindungi sel dari kematian dan apoptosis setelah terjadinya stress oksidatif.

Teh hijau mampu menurunkan apoptosis karena polifenol dalam teh hijau mempunyai kemampuan bioavailabilitas yang tinggi, sehingga mampu bekerja di jaringan ovarium. Ekstrak maserasi teh hijau juga mampu mencegah stress oksidatif dan dapat menyebabkan penurunan apoptosis melalui perannya sebagai antioksidan.

6.3. Korelasi antara Kadar SOD dengan Apoptosis Sel Granulosa Folikel Ovarium pada *Rattus Norvegicus*

Pada penelitian ini di dapatkan bahwa terdapat korelasi antara kadar SOD di ovarium dengan apoptosis sel granulosa folikel ovarium yang dipajan MSG.

Berdasarkan hasil analisa dari uji korelasi *Pearson* kadar SOD dengan apoptosis pada semua kelompok perlakuan dengan dosis 0.7 mg, dosis 1.4 mg, dosis 2.8mg, terdapat hubungan yang bermakna dimana $p\text{-value}=0.000<\alpha$. Hal ini ditunjukkan dengan nilai koefisien korelasi yaitu -0.803 dan termasuk hubungan yang tinggi/kuat. Pemberian ekstrak teh hijau akan mengakibatkan terjadinya peningkatan pada kadar SOD dan selanjutnya akan berpengaruh menurunkan apoptosis sel granulosa folikel ovarium pada tikus yang dipajan MSG.

Polifenol mengandung flavonoid yang terdiri dari berbagai jenis, seperti flavonol, flavones, flavonem isoflavon, antosianin dan katekin. Sebagai bahan bioaktif, antosianin dan katekin berfungsi menangkap radikal bebas sehingga dapat menghambat terjadinya kerusakan pada membran sel serta menghambat enzim prooksidan dan menginduksi enzim antioksidan. Sifat antioksidan polifenol dapat melindungi jaringan, sel, dan plasma dari kerusakan oksidatif (Chaturvedula dan Prakash, 2011).

Stres oksidatif yang terjadi akibat peningkatan radikal bebas dapat menyebabkan ketidakstabilan kromosom dan apoptosis sel yang merupakan mekanisme utama kematian oosit. Apoptosis pada oosit dalam jumlah yang besar akan mengakibatkan kerusakan jaringan yang ditandai dengan terjadinya atrofi pada ovarium dan menyebabkan fungsi reproduksi menurun (Qin, 2011).

Ekstrak maserasi teh hijau mengandung sebagian besar katekin, asam fenolik, tannin yang dapat bekerja secara sinergis bersama-sama mampu memberikan efek antioksidan yang optimal serta memiliki kemampuan menangkap radikal bebas seratus kali lebih baik dibandingkan dengan vitamin C dan E.

Penelitian yang dilakukan oleh El-Beshbishty, 2011 menunjukkan bahwa polifenol yang terdapat dalam teh hijau juga mampu meningkatkan aktivitas SOD sebagai antioksidan endogen yang mampu melindungi kerusakan organ melalui mekanisme antioksidan, antiinflamasi dan antiapoptosis.

Enzim SOD berperan dalam pengaturan perkembangan folikel, ovulasi dan fungsi luteal. Aktifitas SOD pada cairan di fase folikuler ovarium sebelum terjadinya ovulasi nilainya lebih tinggi dibandingkan dengan cairan serum. Meningkatnya aktivitas SOD memberikan perlindungan pada oosit terhadap kerusakan oksidatif. Pembentukan MnSOD menekan apoptosis pada korpus luteum kelinci secara in vitro. MnSOD juga bertanggung jawab dalam menghambat apoptosis (Fujii J, Iuchi Y., Okada D., 2005).

Penelitian yang dilakukan oleh Devine, *et al.*, 2012 pada kultur folikel antral tikus membuktikan bahwa enzim antioksidan yang melindungi sel dari ROS memainkan peran penting dalam folikogenesis. Paparan ROS menyebabkan stress oksidatif sehingga memicu inisiasi apoptosis pada folikel antral. Berkurangnya antioksidan akan menyebabkan atresia folikel antral in vivo dan apoptosis dari sel granulosa yang ditandai dengan meningkatnya ROS dan penanda dari stress oksidatif. Penelitian ini juga melaporkan bahwa asam askorbat, *N-acetylystein*, SOD dan CAT memberikan perlindungan terhadap apoptosis pada folikel antral tikus yang dikultur.