



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL
BENGKOANG (*Pachyrhizus erosus*) TERHADAP
EKSPRESI ESTROGEN RESEPTOR BETA DAN
JUMLAH EPITEL ENDOMETRIUM PADA TIKUS
WISTAR MODEL HIPOESTROGEN DENGAN DMPA**

TESIS

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Magister



OLEH
SURYANTI. S
176070400111006

**PROGRAM STUDI MAGISTER KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS
BRAWIJAYA MALANG
2019**

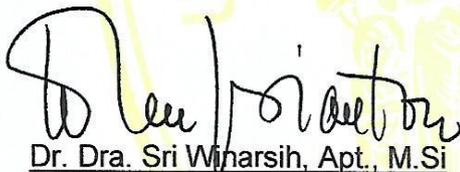
TESIS

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BENGKOANG (*Pachyrhizus erosus*) TERHADAP EKSPRESI ESTROGEN RESEPTOR BETA DAN JUMLAH EPITEL ENDOMETRIUM PADA TIKUS WISTAR MODEL HIPOESTROGEN DENGAN DMPA

Oleh:
SURYANTI. S
176070400111006

Dipertahankan didepan penguji
pada tanggal : 19 Juli 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat

KOMISI PEMBIMBING



Dr. Dra. Sri Wiharsih, Apt., M.Si

NIP 195408231981032001

Ketua



Dr. dr. Tatit Nurseta, SpOG(K)Onk

NIP 196709091997031001

Anggota

Malang, 24 JUL 2019

Universitas Brawijaya

Fakultas Kedokteran

Dekan,



Dr. dr. Wisnu Barlianto, M.Si.Med, SpA(K)

NIP 197307262005011008

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL
BENGOANG (*Pachyrhizus erosus*) TERHADAP
EKSPRESI ESTROGEN RESEPTOR BETA DAN
JUMLAH EPITEL ENDOMETRIUM PADA TIKUS
WISTAR MODEL HIPOESTROGEN DENGAN DMPA

Oleh:
SURYANTI, S
176070400111006

Dipertahankan didepan penguji
pada tanggal : 19 Juli 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat

KOMISI PENGUJI



Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M.Si

NIP 195408231981032001

Ketua



Dr. dr. Tatit Nurseta, SpOG(K)Onk

NIP 196709091997031001

Anggota Penguji



Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes

NIP 196603231997032001

Anggota Penguji



dr. Eviana Norahmawati, S.PA (K)

NIP 196910281997022001

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, 19 Juli 2019

Mahasiswa,



Nama : Suryanti. S
NIM : 176070400111006
PS : Magister Kebidanan
Fak : Kedokteran UB



KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyajikan tulisan proposal tesis yang berjudul **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BENGKOANG (*Pachyrhizus Erosus*) TERHADAP EKSPRESI ESTROGEN RESEPTOR BETA DAN JUMLAH EPITEL ENDOMETRIUM PADA TIKUS WISTAR MODEL HIPOESTROGEN DENGAN DMPA.**

Di dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi *Depomedroksiprogesterone acetate*, estrogen, endometrium dan pengaruh ekstrak etanol bengkoang terhadap sistem reproduksi terutama pada estrogen reseptor dan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA.

Dengan selesainya tesis ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Nuhfil Hanani AR., MS. 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. Dr. dr. Wisnu Barlianto, M.Si.Med, SpA(K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, atas izin yang di berikan selama penulis dapat menempuh pendidikan di Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. 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



4. Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M.Si selaku Ketua Komisi Pembimbing dan Dr. dr. Tatit Nurseta, Sp. OG(K) Onk selaku Anggota Pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan masukan selama proses penyusunan tesis ini.

5. Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes selaku Penguji I dan dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA (K) selaku penguji II yang telah banyak memberikan masukan dan arahan demi kesempurnaan tesis ini.

6. Ibunda Mastura, S.Pd, Ayahanda Drs. Sudirman, S., dan adik saya satu-satunya Muh. Asyraf, S.T atas bimbingan, dukungan, dan bantuannya selama menempuh pendidikan Magister.

7. Mayasari Putri Ardela dan Eka Frenti serta Rekan-rekan Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Angkatan 2017 atas dukungannya selama menempuh pendidikan Magister

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Juli 2019

Penulis

RINGKASAN

Suryanti, S

Pengaruh Pemberian Ekstrak Bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) terhadap Ekspresi Estrogen Reseptor Beta Dan Jumlah Epitel Endometrium Pada Tikus Wistar Model Hipoestrogen dengan DMPA. Program Studi Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Ketua Komisi Pembimbing : Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Si., Apt. ; Anggota : Dr. dr. Tatit Nurseta, Sp. OG (K).

Hipoestrogen merupakan kondisi kekurangan hormon estrogen yang banyak ditemukan pada wanita menopause dan akseptor kontrasepsi hormonal. Salah satu kontrasepsi yang banyak digunakan adalah *Depot-Medroxy Progesterone Acetate* (DMPA). DMPA mengandung progesteron yang dapat menekan produksi estrogen sehingga menyebabkan turunnya ekspresi estrogen reseptor dan atrofi pada endometrium. Fitoestrogen merupakan senyawa kimia yang memiliki struktur dan mekanisme kerja yang menyerupai estrogen. ER β merupakan salah satu reseptor estrogen yang memiliki kemampuan berikatan dengan fitoestrogen lebih kuat dibanding reseptor lainnya. Ikatan antara ER β dan fitoestrogen mampu merangsang proliferasi sel epitel pada endometrium. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak etanol bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) terhadap ekspresi estrogen reseptor beta dan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA.

Penelitian merupakan penelitian *true-eksperimental* untuk menemukan *cause effect relationships*. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus wistar yang dibagi dalam 5 kelompok sampel yaitu kelompok kontrol negatif (tanpa dipapar DMPA dan tidak diberi ekstrak bengkoang), kelompok kontrol positif (DMPA dengan dosis 2,7 mg), perlakuan 1 (dipapar DMPA dengan dosis 2,7 mg dan ekstrak bengkoang dosis 70 mg/200 g BB), perlakuan 2 (dipapar DMPA dengan dosis 2,7 mg dan ekstrak bengkoang dosis 140 mg/200 g BB), perlakuan 3 (dipapar DMPA dengan dosis 2,7 mg dan ekstrak bengkoang dosis 280 mg/200 gBB). Pada penelitian ini dilakukan swab vagina sebanyak 3 kali yaitu sebelum pemberian paparan DMPA untuk menentukan fase estrus, setelah pemberian paparan DMPA untuk menentukan kondisi hipoestrogen dan sebelum pembedahan untuk menentukan fase proestrus. Setelah pembedahan dilakukan pemeriksaan ekspresi ER β dengan menghitung jumlah sel yang mengekspresikan ER β melalui pemeriksaan imunohistokimia pada sel epitel dan stroma endometrium yang hasilnya dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400kali pada 5 lapang pandang. Selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah epitel endometrium dengan menghitung jumlah epitel permukaan dan epitel kelenjar pada endometrium yang dipotong secara vertikal kemudian dibuat slide histopatologi dan dilakukan pewarnaan *Hematoxylin eosin*. Jumlah epitel dihitung dengan menggunakan *Dotslide Microscope Olympus XC10* dengan pembesaran 400kali pada 5 lapang pandang.

Pada hasil pemeriksaan swab vagina ditemukan leukosit dan tidak ada sel yang terkornifikasi. Pada saat kadar estrogen rendah akan ditemukan jumlah leukosit meningkat sebagai respon tubuh untuk melindungi diri terhadap menipisnya sel epitel dan masuknya patogen dengan proses inflamasi. Penelitian ini menemukan terdapat penurunan ekspresi ER β pada endometrium dan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar yang diberikan DMPA. Hal ini terkait dengan kandungan progesteron pada DMPA yang mampu menekan produksi estrogen sehingga menyebabkan inaktivasi pada ER β dan atrofi pada endometrium. Pemberian bengkoang mampu meningkatkan ekspresi ER β pada endometrium dan jumlah epitel endometrium pada berbagai dosis dengan korelasi searah. Ekspresi ER β dan jumlah epitel meningkat secara signifikan pada dosis ketiga (280mg/200gBB). Bengkoang mengandung fitoestrogen jenis daidzein dan genestein yang memiliki peran dan kemampuan untuk mengurangi gejala yang ditimbulkan akibat hipoestrogen sehingga mampu memperbaiki system reproduksi dengan meningkatnya ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium.

DMPA menurunkan ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA. Ekstrak bengkoang meningkatkan ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA.

SUMMARY

Suryanti. S

Effect of Bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) Ethanol Extract on Estrogen Receptor Beta Expression and The Number of Endometrial Epithelium in Hypoestrogenic Wistar Mice with DMPA. Master Program in Midwifery, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Chair of the Supervisory Commission Dr. Dra. Sri Winarsih, M.Sc., Apt.; Member Dr. dr. Tatit Nurseta, Sp. OG (K).

Hypoestrogen is a condition of estrogen deficiency which found in menopausal women and acceptors of hormonal contraceptive. One of the most widely used contraceptives is Depotmedroxy Progesterone Acetate (DMPA). DMPA contains progesterone which can suppress estrogen production which causes a decrease in estrogen receptor expression and atrophy in the endometrium. Phytoestrogens are chemical compounds that have estrogen-like structures and mechanisms of action. ER β is one of the estrogen receptors which has the ability to bind to phytoestrogens more strongly than other receptors. The bond between ER β and phytoestrogens can stimulate the proliferation of epithelial cells in the endometrium. Therefore this study aims to analyze the effect of bengkoang ethanol extract (*Pachyrhizus erosus*) on the expression of estrogen receptor beta and the number of endometrial epithelium in hypoestrogenic wistar mice with DMPA.

The Research designed true-experimental to find cause effect relationships. This study used 25 wistar rats which were divided into 5 sample groups namely negative control group (without exposure to DMPA and not given bengkoang extract), positive control group (DMPA with a dose of 2.7 mg), treatment 1 (exposed to DMPA at a dose of 2, 7 mg and bengkoang extract dose of 70 mg / 200 g BB), treatment 2 (exposed to DMPA with a dose of 2.7 mg and bengkoang extract dose 140 mg / 200 g BB), treatment 3 (exposed to DMPA with a dose of 2.7 mg and extract bengkoang dose 280 mg / 200 g BB). In this study three vaginal swabs were performed, namely before administration of DMPA exposure to determine the estrus phase, after administration of DMPA exposure to determine hypoestrogenic conditions and before surgery to determine the proestrus phase. After surgery, ER β expression was examined by counting the number of cells expressing ER β through immunohistochemical examination of epithelial cells and endometrial stroma, the results of which were seen using a light microscope with 400 times magnification at 5 fields of view. Then the number of endometrial epithelium was calculated by calculating the number of surface epithelium and glandular epithelium in the endometrium which was cut vertically and then made histopathological slides and Hematoxylin eosin staining was performed. The number of epithelium was calculated using the Dotslide Olympus XC10 Microscope with 400 times magnification at 5 fields of view.

The results of the vaginal swab examination, leukocytes were found and no cells were cornified. When low estrogen levels are found, the number of leukocytes increases as the body responds to protecting itself from depletion of epithelial cells and the entry of pathogens with the inflammatory process. This study found there was a decrease in ER β expression in the endometrium and the number of endometrial epithelium in wistar mice given DMPA. This is related to the content of progesterone in DMPA which can suppress estrogen production, causing inactivation of ER β and atrophy in the endometrium. The administration of Bengkoang can increase ER β expression in the endometrium and the number of endometrial epithelium at various doses with unidirectional correlation. ER β expression and epithelial count increased significantly in the third dose (280mg / 200gBB). Bengkoang contains daidzein and genestein phytoestrogens which have the role and ability to reduce symptoms caused by hypoestrogens so they can improve the reproductive system with increased expression of ER β and the number of endometrial epithelium.

DMPA decreases ER β expression and the number of endometrial epithelium in hypoestrogenic wistar mice with DMPA. Bengkoang extract increases ER β expression and the number of endometrial epithelium in hypoestrogenic wistar mice with DMPA.



DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS.....	iv
HALAMAN PERUNTUKAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
RINGKASAN.....	vii
SUMMARY.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL.....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.1 Rumusan Masalah.....	5
1.2 Sub Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 <i>Depo Medroxyprogesterone Acetat</i>	8
2.2 Estrogen.....	10
2.3 Reseptor Estrogen.....	12
2.4 Endometrium.....	17
2.5 Fitoestrogen.....	22
2.6 Bengkoang.....	25
2.7 Tikus Wistar.....	27
BAB 3 KERANGKA TEORI DAN KONSEP PENELITIAN.....	33
3.1 Kerangka Teori.....	33
3.2 Kerangka Konsep.....	35
3.3 Hipotesis.....	37
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	38
4.1 Desain penelitian.....	38
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	38
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian.....	39
4.4 Variabel penelitian.....	39
4.5 Definisi Operasional.....	40
	x



DAFTAR TABEL

Table 2.1 Taksonomi Bengkoang	26
Tabel 2.2 Nilai Gizi bengkoang	26
Tabel 2.3 Klasifikasi <i>Rattus norvegicus</i>	27
Table 2.4 Data Biologis Tikus Putih	28
Tabel 4.1 Definisi Operasional	40
Tabel 5.1 Hasil Uji Normalitas data	59
Tabel 5.2 Hasil Uji Korelasi	65



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Kadar Progesteron Dalam Darah 9

Gambar 2.2. Deskripsi Struktural Estrogen Reseptor..... 13

Gambar 2.3 Jalur Signal Transduksi pada Estrogen 15

Gambar 2.4 Histologi dinding tuba uterus pada lapisan epitel 19

Gambar 2.5 Histologi dinding uterus pada fase proliferasi dengan HE 20

Gambar 2.6 Siklus Perubahan Endometrium..... 21

Gambar 2.7 Bengkkoang..... 25

Gambar 2.8 Perubahan Kadar Hormon pada Tikus 30

Gambar 2.9 Apusan Vagina pada tikus dengan ovariectomi 31

Gambar 3.1 Kerangka Teori 33

Gambar 3.2 Kerangka Konsep 35

Gambar 4.1 Pembagian Kelompok Penelitian 43

Gambar 4.2 Alur Penelitian..... 52

Gambar 5.1 Hasil Pemeriksaan Apusan Vagina..... 54

Gambar 5.2 Hasil Pewarnaan Epitel Endometrium 56

Gambar 5.3 Hasil IHK ERβ Pada Endometrium 58

Gambar 5.4 Histogram Rerata Ekspresi ERβ 60

Gambar 5.5 Histogram Rerata Jumlah Sel Epitel..... 62



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Keterangan Kelaikan Etik 84

Lampiran 2 Surat Keterangan Hewan Coba 85

Lampiran 3 Surat Keterangan Ekstrak 86

Lampiran 4 Surat Keterangan Bebas Plagiasi 87

Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian 88

Lampiran 6 Analisis Data 89

Lampiran 7 *Letter of Acceptance* 94

**DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL**

AC	: Adenylatecyclase
AF1	: Activation Fungsi 1
AMP	: Adenosin Monofosfat
DBD	: DNA Binding Domain
DMPA	: Depot Medroxyprogesteron Acetat
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
E2	: 17Beta-Estradiol
EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor
Er α	: Estrogen Reseptor Alfa
Er β	: Estrogen Reseptor Beta
ERs	: Estrogen Reseptors
ERK	: Ekstracelluler Signal Regulated Kinase
GPER	: G-Protein Coupled Estrogen Reseptor
GPR30	: G-Protein Couple Reseptor 30
HE	: Hematoxylin Eosin
Hsp90	: Heat Shock Protein 90
IgG	: Immunoglobulin G
LBD	: Ligan Binding Domain
LH	: Luteinizing Hormone
MAPK	: Mitogen Activated Protein Kinase
MCF-7	: Sel line pada kanker payudara
MMP9	: Matrix Metalloproteinase 9
MOW	: Metode Operatif Wanita
mRNA	: Massanger RNA
PKA	: Protein Kinase A



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hipoestrogen merupakan kondisi kekurangan hormon estrogen yang banyak ditemukan pada wanita menopause dan akseptor kontrasepsi hormonal (Lara *et al.*, 2009). Kontrasepsi digunakan untuk menekan laju pertumbuhan penduduk diberbagai negara, termasuk Indonesia. Berdasarkan survei kependudukan, alat kontrasepsi yang banyak digunakan adalah kontrasepsi hormonal dengan jenis suntikan sebanyak 47,96% akseptor dari 74,80% akseptor kontrasepsi (BKKBN, 2016). DMPA (*Depot Medroxyprogesterone Acetat*) merupakan kontrasepsi yang sangat efektif dengan efektifitas hampir sama dengan MOW namun memiliki efek samping pada kesehatan reproduksi wanita (Ozgoli, *et al.*, 2015). Efek samping yang ditimbulkan oleh DMPA yaitu perdarahan yang tidak teratur, amenore, sakit kepala dan depresi. Penggunaan jangka Panjang dapat menyebabkan penundaan kesuburan setelah berhenti menggunakan DMPA (Veisi and Zangeneh, 2013).

DMPA mengandung hormon progesteron yang memiliki aktivitas progesterogenik pada manusia. Terdapat tiga mekanisme kerja dari DMPA yaitu menghambat ovulasi dengan menekan hipotalamus, mengentalkan lendir serviks sehingga mencegah masuknya sperma dan menipiskan endometrium sehingga dapat mengakibatkan atrofi pada endometrium (Allen *et al.*, 2016). Akseptor DMPA akan mengalami perubahan siklus menstruasi akibat kerja progesteron yang menekan ovulasi dan menipiskan dinding endometrium. Penggunaan jangka panjang akan mengakibatkan penurunan level estradiol yang signifikan. Penurunan level estrogen yang terus menerus dapat mengakibatkan terjadinya



hipoestrogen (Black *et al.*, 2004). Kondisi hipoestrogen dalam jangka panjang dapat mengakibatkan gangguan pada sistem reproduksi wanita.

Progesteron dalam DMPA dapat menghambat kemampuan 17beta-estradiol (E2), dan menurunkan ekspresi estrogen reseptor. Reseptor estrogen bertugas memediasi estrogen dalam siklus menstruasi dan kinerja organ-organ yang terlibat di dalamnya, sehingga pemakaian DMPA jangka panjang dapat menyebabkan penundaan kembalinya kesuburan dengan lama rata-rata 9-10 bulan. Dalam sebuah penelitian melaporkan rentang waktu kembalinya kesuburan tercepat adalah 4 bulan dan waktu terlama adalah 31 bulan (Jacobstein and Polis, 2014).

Estrogen dan progesteron merupakan hormon reproduksi yang berperan dalam memberikan stimulasi untuk perkembangan endometrium normal dan menstruasi sehingga ketidakseimbangan kedua hormon ini akan menyebabkan abnormalitas pada endometrium. Estrogen dan progesteron bekerja pada endometrium dengan menggunakan reseptor yang berbeda. Ekspresi abnormal dari reseptor ini dapat mengakibatkan gangguan perdarahan (abnormal bleeding) pada endometrium (Weihua *et al.*, 2000). Jaringan target hormon reproduksi yang dihasilkan di ovarium memiliki sel target yang heterogen. Salah satu organ target hormon reproduksi tersebut adalah endometrium yang terdiri atas epitel, stroma dan otot polos. Sel-sel target ini selalu mengalami perubahan mengikuti proliferasi dan diferensiasi jumlah estrogen dan progesteron (Weihua *et al.*, 2000).

Estrogen dalam reproduksi wanita adalah estradiol yang diproduksi di ovarium. Kekurangan estradiol dapat menyebabkan gangguan pada organ reproduksi, menstruasi tidak teratur bahkan tidak mengalami menstruasi sama sekali, gangguan tidur, jantung berdebar-debar, hot flushes, nyeri sendi, osteoporosis hingga gangguan psikologis seperti perubahan mood dan depresi berat (Jacobstein and Polis, 2014). Hipoestrogen mengakibatkan epitel yang



merupakan lapisan permukaan pada endometrium tidak berkembang, sehingga endometrium tidak dapat bekerja normal yang akhirnya mengakibatkan implantasi terhambat (Speroff and Darney, 2010).

Estrogen memiliki dua reseptor yang terdiri atas ER α dan ER β yang memiliki peran yang berbeda. Dalam siklus menstruasi dengan penambahan DMPA, estrogen (estradiol) tetap diproduksi namun dalam jumlah yang lebih kecil dari pada siklus normal. Penurunan estradiol akibat DMPA ini mengakibatkan inaktivasi reseptor estrogen. Kedua reseptor (ER α dan ER β) dapat mengikat estradiol dengan afinitas yang sama namun kedua reseptor dapat memiliki respon yang berbeda terhadap beberapa agonis dan antagonis estrogen. Pada sebuah studi dengan tikus, ER β dapat memodulasi efek ER α pada endometrium dalam menanggapi estradiol sehingga proporsi ER α dan ER β di endometrium dapat menentukan respon terhadap estradiol dan analognya (Sereepapong *et al.*, 2004).

Menurut Meendering (2008) penggunaan DMPA dapat menurunkan estradiol dalam tubuh wanita sehingga mempengaruhi fungsi endotelial dan kepadatan mineral tulang, oleh karena itu wanita yang menggunakan DMPA disarankan dapat dikombinasikan dengan *add-back* estradiol untuk melawan efek samping DMPA. Namun dalam beberapa penelitian, estrogen yang berlebih dianggap dapat memicu timbulnya beberapa penyakit kanker pada wanita yang terkait dengan proliferasi seluler, apoptosis, dan kerusakan DNA (Brown and Hankinson, 2015). Pengembangan produk estrogen yang lebih aman dibutuhkan untuk meningkatkan kesehatan reproduksi wanita, diantaranya fitoestrogen.

Fitoestrogen merupakan senyawa kimia yang memiliki struktur sama dengan estrogen yang ditemukan pada tumbuhan. Fitoestrogen memiliki mekanisme kerja yang mirip dengan estrogen. Pada sebuah penelitian dengan paparan fitoestrogen (coumenstrol) daun semanggi dapat meningkatkan ekspresi ER β (Patisaul *et al.*, 1999). Dalam sebuah studi mengenai puerarin dalam akar



Pueraria (*Radix puerariae*) sebagai salah satu fitoestrogen menunjukkan bahwa puerarin memiliki efek menghambat pertumbuhan sel kanker yang dikaitkan dengan kerja estrogen dalam tubuh melalui ikatan dengan ER β (Wang *et al.*, 2011). Salah satu senyawa fitoestrogen yang memiliki struktur mirip dengan estrogen adalah daidzein dan ganestein yang dapat menimbulkan efek estrogenic dan anti estrogenic (Morán *et al.*, 2013). Daidzein dan ganestein banyak ditemukan pada produk kacang-kacangan. Penduduk asia sendiri mengkonsumsi produk kacang-kacangan dalam berbagai bentuk olahan dan dijadikan sumber protein berkualitas tinggi. Namun dalam sebuah studi mengenai produk kacang-kacangan ditemukan bahwa protein kedelai meningkatkan kadar asam urat serum pada manusia sehingga dapat meningkatkan resiko penyakit *gout* (Messina *et al.*, 2011). Kacang kedelai merupakan makanan yang mengandung purin dalam jumlah banyak sehingga akan mempengaruhi asam urat dalam tubuh. Wanita dengan kondisi hipoestrogen dapat mengalami peningkatan kadar asam urat dibandingkan dengan wanita yang memiliki kadar estrogen normal. (Mumford *et al.*, 2013). Oleh karena itu dibutuhkan alternatif lain pemberian fitoestrogen sebagai pengganti estrogen endogen selain dari produk kacang-kacangan.

Salah satu makanan yang mengandung fitoestrogen selain golongan kacang-kacangan adalah bengkoang (*Pachyrhizus erosus*). Bengkoang merupakan tanaman umbi dari famili *Fabaceae* yang memiliki senyawa metabolit sekunder yang memiliki cincin aromatik menyerupai hormon estrogen. Bengkoang mengandung deidxein dan ganestein yang merupakan senyawa isoflavan dengan kadar yang cukup tinggi (Primiani, 2018). Fitoestrogen pada umbi bengkoang mengandung 4 senyawa yaitu daidzein, daidzein-7-O- β -glukopiranosida, 5-hidroksi-daidzein-7-O- β -glucopyranosida dan (8,9)-furanil-ptecarpan-3-ol. Senyawa-senyawa dalam umbi bengkoang ini dapat dipakai sebagai senyawa fitoestrogen yang memiliki sifat estrogenic yang dapat berikatan dengan reseptor estrogen



sehingga dapat memicu proliferasi sel. Dalam sebuah penelitian dengan menggunakan ekstrak umbi bengkoang ditemukan bahwa ekstrak tersebut memiliki pengaruh positif terhadap mencegah terjadinya kerapuhan pada tulang akibat kondisi estrogen yang rendah dan memicu penebalan dinding endometrium pada tikus hipoestrogen (Primiani, 2018).

Dari uraian diatas maka dilakukan penelitian menggunakan hewan coba dengan model hipoestrogen melalui pemberian DMPA sehingga penelitian ini dapat menganalisis pengaruh pemberian DMPA terhadap ekspresi estrogen reseptor beta dan jumlah epitel endometrium serta untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak ethanol Bengkoang (*Pachyrhizuz erosus*) terhadap ekspresi estrogen reseptor beta dan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak bengkoang (*Pachyrhizuz erosus*) dapat meningkatkan ekspresi estrogen reseptor beta dan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA?

1.3 Sub Rumusan Masalah

1.3.1 Apakah pemberian DMPA dapat menurunkan ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA?

1.3.2 Apakah pemberian ekstrak Bengkoang meningkatkan ekspresi ER β pada pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA?

1.3.3 Apakah pemberian ekstrak Bengkoang meningkatkan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA?

1.3.4 Apakah ada korelasi antara dosis ekstrak bengkoang, ekspresi estrogen reseptor beta dan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA?



1.4 Tujuan

1.4.1 Tujuan Umum

Untuk membuktikan bahwa pemberian ekstrak bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) dapat meningkatkan ekspresi estrogen reseptor beta dan jumlah sel epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis hubungan pemberian paparan DMPA dalam meningkatkan ekspresi estrogen reseptor beta ($ER\beta$) dan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA
2. Menganalisis hubungan pemberian ekstrak bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) dalam meningkatkan ekspresi estrogen reseptor beta pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA
3. Menganalisis hubungan pemberian ekstrak bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) dalam meningkatkan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA
4. Menganalisis korelasi antara dosis ekstrak bengkoang (*Pachyrhizus erosus*), ekspresi estrogen reseptor beta dan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Akademis

Peneliti berharap hasil penelitian ini dapat dijadikan rujukan bagi pengembangan ilmu kebidanan terutama dalam bidang kesehatan reproduksi dan keluarga berencana serta menjadi referensi bagi peneliti lain untuk pengembangan penelitian dengan tema serupa.



1.5.2 Manfaat Praktis

Peneliti berharap penelitian ini dapat memberikan informasi terkait manfaat bengkoang sebagai bahan alami yang murah dan aman untuk akseptor DMPA sebagai alternatif pengganti hormon estrogen untuk mempercepat pemulihan kesuburan setelah penggunaan DMPA.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Depo Medroxyprogesteron Acetat

2.1.1 Pengertian

Depo Medroxyprogesteron Acetat (DMPA) merupakan kontrasepsi hormonal jangka panjang yang mengandung hormon progesteron. DMPA diberikan melalui injeksi secara intramuskular dan dianggap kontrasepsi yang sangat efektif dan aman dengan interval pemberian 12 minggu (3 bulan).

Efektivitas yang tinggi merupakan kelebihan yang ditawarkan kepada akseptor

DMPA dimana resiko kehamilan lebih kecil dibandingkan kontrasepsi yang lain dengan perbandingan sekitar 1 kehamilan per 100 wanita yang menggunakan kontrasepsi ini dengan teratur dan tepat waktu (WHO, 2014).

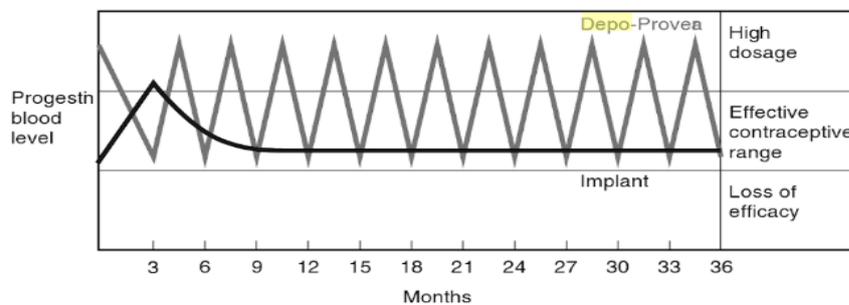
DMPA berisi progestin sintesis yaitu 17-acetoxyprogesteron yang dapat dimetabolisme dengan cepat pada manusia (Shoupe and Kjos, 2006). DMPA diformulasikan sebagai mikrokristal yang tersuspensi dalam larutan berair (Low *et al.*, 2008). DMPA injeksi 3 bulan mengandung 150 mg progesteron asetat yang diberikan secara injeksi melalui intramuskuler kedalam deltoid atau gluteus otot dan dilepaskan secara perlahan-lahan ke tubuh (Strauss and Barbieri, 2013). Hal ini merupakan keuntungan DMPA, dimana efektifitasnya setara dengan kontrasepsi oral kombinasi dengan penggunaan jangka Panjang yang injeksinya hanya 4 sampai 6 kali setahun tanpa mempengaruhi proses laktasi (Leveno *et al.*, 2009).

2.1.2 Mekanisme Kerja

DMPA bekerja dengan menghambat ovulasi, meningkatkan viskositas lendir serviks dan menipiskan endometrium. Setelah diinjeksi secara intramuskuler dalam 20 menit DMPA langsung bekerja dengan mencegah terjadinya LH surge



dan ovulasi. Setelah 24 jam injeksi DMPA dapat ditemukan dalam darah lebih dari 0,5 ng/mL dan mencapai puncak kadar tertinggi sebesar 1-1,5 ng/mL setelah injeksi dan bertahan selama kurang lebih 3 bulan hingga akhirnya menurun. Untuk efektifitas penggunaan DMPA membutuhkan dosis ulangan setiap 12 minggu (3 bulan) secara teratur. Dalam beberapa penelitian didapatkan bahwa DMPA mampu bertahan dalam sirkulasi selama 7 sampai 9 bulan setelah injeksi pertama. Kadar DMPA menurun setelah 4 sampai 6 bulan penggunaan dan berangsur-angsur hilang pada sirkulasi pada 13 minggu penggunaan (Strauss and Barbieri, 2013). Pemberian yang teratur setiap 3 bulan dapat dilakukan akibat solubilitas mikrokrystal yang rendah pada tempat injeksi sehingga memungkinkan obat dapat bertahan selama beberapa bulan (Melmed, 2016).



Gambar 2.1 Kadar progesterin dalam darah

Keterangan : Progesterin pada DMPA dalam sirkulasi beredar pada dosis maksimal dengan pemberian ulangan yang rutin berbeda dengan progesterin pada implant yang berada pada dosis efektif yang stabil selama penggunaan implant (Speroff and Darney, 2010)

Pada DMPA, kadar progesterin yang beredar dalam darah cukup tinggi hal ini untuk mendukung penebalan lendir serviks dan perubahan pada endometrium. Sebagaimana terlihat pada gambar 2.1 yang menunjukkan kadar progesterin dalam darah yang diinjeksikan secara teratur akan bertahan pada dosis yang cukup untuk mencegah terjadinya kehamilan. Tingginya kadar progesterin akan memblokir *leuteinizing hormone* (LH) sehingga ovulasi tidak terjadi (Speroff and Darney,



2010). Tidak terjadinya ovulasi dapat mengakibatkan rendahnya kadar estradiol pada wanita normal (Melmed, 2016).

2.1.3 Efek Samping

Akseptor DMPA akan mengalami beberapa efek samping penggunaan (Shoupe and Kjos, 2006) yaitu dapat berupa.

1. Perdarahan tidak teratur dan tidak mens. DMPA akan mengakibatkan perdarahan yang tidak teratur selama awal penggunaan. Akseptor DMPA dapat mengalami amenore yang tidak terduga, tidak teratur, sering dan berat
2. Kenaikan berat badan, hal ini dikaitkan dengan faktor resiko individu seperti kecenderungan penambahan berat badan dan latar belakang etnis.
3. Sakit kepala merupakan keluhan yang umum ditemukan pada tahun pertama penggunaan DMPA.
4. Infertility, DMPA dapat menyebabkan terjadinya penundaan kesuburan pasca pemakaian DMPA. Pada beberapa wanita (50% wanita) mengalami penundaan kesuburan selama 10 bulan pasca pelepasan DMPA. Bahkan pada beberapa wanita ditemukan kesuburan dapat kembali 18 bulan setelah lepas dari DMPA (Melmed, 2016).
5. Efek samping lainnya seperti Depresi, Mual, Jerawat, Hot flush dan kering pada vagina serta Tulang keropos

2.2 Estrogen

2.2.1 Pengertian

Estrogen adalah senyawa steroid yang berperan sebagai hormon seks pada wanita. Estrogen bekerja sebagai hormon pertumbuhan dan perkembangan karakteristik seksual sekunder pada wanita misalnya payudara, rambut kemaluan dan ketiak, mengatur siklus menstruasi dan sistem reproduksi pada wanita. Pada siklus menstruasi estrogen membentuk lingkungan yang sesuai untuk pembuahan, implantasi dan nutrisi untuk embrio (Darbre, 2015)



Estrogen banyak disekresi di ovarium secara periodik pada siklus menstruasi untuk membantu uterus pada proses pembuahan, implantasi ovum yang di buahi dan memelihara embrio pada fase awal kehidupan. Selain di ovarium estrogen juga disekresi pada adrenal cortex, plasenta, dan sel adiposa. Walaupun disebut sebagai hormon seks pada wanita, estrogen juga diproduksi di testis walaupun dalam jumlah yang lebih sedikit. Sehingga estrogen dalam batas tertentu memiliki peranan fisiologis baik pada wanita maupun pada pria. (Darbre, 2015; Hamilton *et al.*, 2017).

Estrogen utama pada wanita adalah estradiol dimana dalam siklus ovulasi normal wanita dapat menghasilkan kadar estradiol serum mulai 40 pg/mL hingga 250 pg/mL, pada ovarium dihasilkan sekitar 60-600 rag/hari selama siklus menstruasi. Estrogen lain yang dihasilkan adalah estrone yang sebagaian besar berasal dari metabolisme estradiol dan dari aromatisasi androstenedione di jaringan adiposa. Selain itu dihasilkan juga dalam jumlah kecil pada ovarium dan adrenal. Kadar serum selama mesntruasi bervariasi dari 40 hingga 170 pg/mL (DeMayo *et al.*, 2002).

2.2.2 Mekanisme Kerja Estrogen

Estrogen bekerja dalam mekanisme endoktrin dimana estrogen disekresikan oleh satu organ kemudian dibawa oleh darah ke organ target. Sama halnya dengan hormon-hormon steroid, estrogen berdifusi dengan mudah melintasi membran lipid bilayer pada sel sehingga tidak membutuhkan protein transport untuk melewati sel. Didalam sel target estrogen bertindak melalui interaksi antara reseptor protein intraseluler (Darbre, 2015).

Pada tingkat intraseluler, estradiol merupakan estrogen dominan. Ekstraksi hepatic dari semua estrogen secara signifikan melebihi dari otak dan uterus karena mikrosirkulasi hati tidak memiliki membran basal dan penghalang permeabilitasnya hanya terdiri dari membran plasma hepatosit. Ekstraksi estrogen



oleh hati, otak, endometrium, dan myometrium melebihi fraksi bebas (*dializable*) dari senyawa, menunjukkan bahwa bagian dari estrogen yang terikat dengan protein tersedia untuk ekstraksi jaringan. Dibawah pengaruh progesteron, menonaktifkan estradiol intraseluler (DeMayo *et al.*, 2002).

Estrogen menyebar dengan bebas kedalam sel, tetapi aktivitasnya dalam sel tergantung pada reseptor estrogen. Selain berikatan dengan reseptor estrogen estradiol juga berikatan dengan ERs terkait membran yang berbeda dengan ER misalnya pada G-protein terkait ER (GPER atau GPR30) yang terpusat di retikulum endoplasma dan menginduksi *adenylate cyclase* (AC), *Ekstracelluler signal Related Kinase* (ERK), Protein Kinase A (PKA), Protein Kinase C (PKC), *Phosphoinositide 3-Kinase* (PI3K) dan *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) *signaling*. GPER atau GPR30 memainkan peran dalam peristiwa pensinyalan non genomic yang cepat yang banyak diamati setelah stimulasi sel dan jaringan dengan estradiol. ER terkait membran lain disebut ER-X yang terikat dan diaktifkan oleh 17α -estradiol dan 17β -estradiol. Ini menunjukkan urutan homologi dengan ER α dan ER β dan mengaktifkan jalur MAPK/ERK (Skinner, 2018).

2.3 Reseptor Estrogen

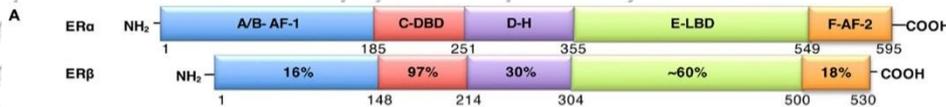
2.3.1 Pengertian

Reseptor estrogen merupakan anggota superfamily reseptor nuklir yang dinamakan estrogen reseptor alfa (ER α) dan estrogen reseptor beta (ER β). Kedua reseptor tersebut merupakan anggota reseptor hormon steroid yang diregulasi dan diaktifkan oleh hormon dari transkripsi. Ikatan ER terkait dengan kompleks multiprotein. Protein tersebut akan membantu reseptor untuk berikatan dengan ligan estrogen dan dapat mencegah aktivitas konstitutif dari reseptor (Lobo, 2007).



2.3.2 Macam-Macam Reseptor Estrogen

Pada manusia terdapat dua reseptor estrogen yang merupakan produk dari gen berbeda yang dikodekan pada kromosom terpisah namun berbagi homologi struktural yang cukup besar. Darbre (2015) dalam bukunya mengategorikan protein reseptor menjadi empat susunan domain utama sebagaimana terlihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2 Deskripsi struktural estrogen reseptor

Keterangan: Daerah N terminal A/B yang mengandung fungsi aktivasi ligan-independen AF-1 (biru), DNA-Binding Domain (DBD) tersusun atas dua lengan sengkang (merah), Daerah engsel yang mengandung sinyal lokalisasi nuklir (ungu) dan Wilayah E/F yang mengandung ligan-binding domain (LBD) dan fungsi ligan dependent transactivation AF-2 (hijau dan orange) (Khan and Ansar Ahmed, 2016)

Pengikatan estrogen ke reseptornya menghasilkan diferensiasi reseptor dan mengikat elemen respon ER *palindromic* dari daerah promotor gen yang responsive terhadap estrogen. Reseptor kemudian berinteraksi dengan kompleks inisiasi transkripsi untuk mengatur transkripsi. *Stilbene* estrogen seperti *diethylstilbestrol* memiliki afinitas tiga hingga empat kali lebih tinggi dari pada estradiol, sedangkan *triphenylethylene* agonis/antagonis bervariasi, dengan *4-hydroxytamoxifen* memiliki hampir dua kali afinitas estradiol, sementara itu *clomiphene* dan *tamoxifen* memiliki 25% atau kurang untuk afinitas estrogen reseptor dari pada estradiol (Lobo, 2007).

1. Estrogen Reseptor alfa

ERα merupakan salah satu dari dua reseptor utama dari estrogen yang dikodekan dengan gen ESR1. Struktur kristal ERα manusia telah menunjukkan bahwa 17β estradiol diposisikan ke dalam LBD oleh ikatan hidrogen dari kelompok 3 dan 17 hidroksil untuk rantai samping asam amino tertentu dan oleh



ikatan hidrofobik dari sisa sistem cincin steroid ke rantai samping asam amino lainnya. Karena ukuran kantung pengikat ligan kurang lebih dua kali ukuran molekul estradiol, berbagai senyawa lain juga dapat diakomodasi, terutama karena fitur struktural spesifik dari pengelompokan para-hidroksifenil baik secara intrinsik atau setelah konversi metabolik (Khan and Ansar Ahmed, 2016).

ER α berperan dalam perkembangan fisiologis dan fungsi berbagai system organ dengan berbagai tingkatan, termasuk system reproduksi, saraf pusat, kerangka dan kardiovaskular. Dengan demikian ER α diekspresikan secara luas keseluruh tubuh. ER α dapat ditemukan di kelenjar susu, uterus, ovarium, tulang, organ reproduksi pria, prostat, hati, dan jaringan adiposa. ER α memiliki peran fisiologis dalam perkembangan dan fungsi ovarium serta system kardiovaskuler. Selain itu (Paterni, Iliaria, Granchi *et al.*, 2014). ER α sangat penting dalam perkembangan organ reproduksi. Aktivitas ER α dapat membantu proliferasi sel dalam rahim sebagai respon terhadap stimulasi estrogen. Ketika ER α tidak ada, estrogen tidak dapat melakukan umpan balik negatif pada hipotalamus, sehingga mempengaruhi fungsi ovarium (Lee *et al.*, 2012).

2. Estrogen reseptor beta

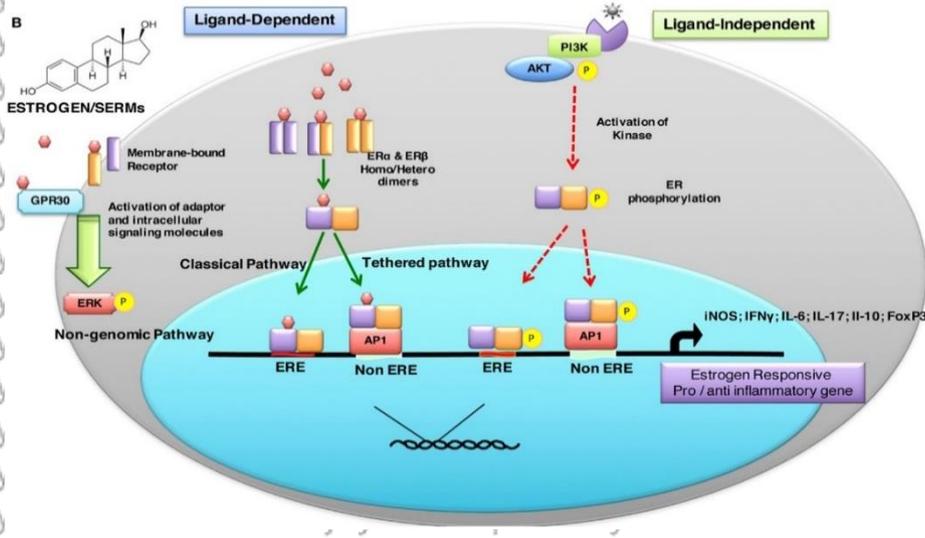
ER β pada manusia memiliki 47% homologi dengan ER α , dengan 96% homologi dalam domain pengikatan DNA dan 58% dalam domain ikatan ligan. Pada estradiol, kedua reseptor berikatan dengan elemen respons estrogen DNA yang sama dengan afinitas serupa. Afinitas ER β untuk ligan alami dan sintesis mirip dengan ER α kecuali pada fitoestrogen ER β memiliki afinitas yang lebih tinggi (Khan and Ansar Ahmed, 2016).

Pada manusia ER β mRNA diekspresikan dalam estrogen – jaringan sensitive seperti uterus, payudara, dan tulang. Selain itu ditemukan juga pada sel granulosa manusia dan spermatid, jaringan tanpa ER α . Selain sebagai DNA klasik yang mengikat reseptor nuklir ER α dan ER β juga ditemukan pada mitokondria.



Genom mitokondria mengandung sekuens responsive estrogen yang potensial dan estrogen meningkatkan tingkat transkrip gen yang dikodekan DNA mitokondria. Estrogen juga mengaktifasi berbagai protein kinase dan meningkatkan jumlah *second messenger* seperti siklik adenosin monofosfat (AMP) dalam beberapa menit. Membran yang terikat pada ER α dan ER β menyebabkan efek nontranskripsi. Dengan demikian estrogen yang bekerja melalui dua reseptor dan melalui jalur genomic dan non genomic dapat mempengaruhi nekusus regulasi seluler yang sangat kompleks (Lobo, 2007).

Ciri umum dari aksi senyawa dengan aktivitas estrogenic adalah pengikatnya yang dapat dipulihkan dan jenuh terhadap ER seluler, dan kinetik. Pengikatan ini menentukan potensi estrogeniknya. Studi struktural menunjukkan bahwa ER α dan ER β mengikat molekul *estrogenic* tunggal ke lokasi spesifik dalam LBD. (Khan and Ansar Ahmed, 2016; Barone *et al.*, 2008).



Gambar 2.3. Jalur signal transduksi pada estrogen

Keterangan : Sinyal transduksi yang dimediasi ER terjadi pada *ligand dependend* (panah hijau) dan ligand independent (panah merah). Jalur yang bergantung pada ligand dipicu oleh ikatan hormon endogen atau senyawa sintesis kedomain pengikat ligand ER di sitosol. Ligan yang berbeda menginduksi ER yang berbeda dan dimerisasi reseptor, yang kemudian mengalami translokasi ke inti dan mengikat ERE tertentu di daerah pengatur gen yang responsive terhadap estrogen (Khan and Ansar Ahmed, 2016)



Mekanisme utama kerja ER adalah sebagai faktor transkripsi ligan-aktif (aksi genom). Dalam beberapa tahun terakhir telah ditemukan bahwa ERs juga bertindak melalui interaksi dengan jalur transduksi sinyal dari reseptor permukaan sel dan estrogen untuk bertindak melalui pengikatan ke *G-Protein Coupled Receptor* (GPER) melalui tindakan nongenomic (Darbre, 2015). Jika tidak ada hormon, ER akan berada dalam fase inaktivasi karena pengaruh *Heat shock protein 90* (Hsp90). Hsp90 mengatur berbagai proses dalam sel-sel eukariotik termasuk stabilisasi protein, mengikat afinitas reseptor terhadap ligan dan signaling cascade. Hsp 90 menghambat degradasi ER tanpa batas dan mencegah ER yang tidak aktif untuk mengikat ligan. Setelah mengikat ligan, ER terfosforilasi membentuk homo dan heterodimer dan kemudian pindah ke dalam nucleus. ERs memodulasi transkripsi gen target dengan mengikat ke elemen respon estrogen (EREs) dalam urutan DNA. Ikatan ERs ke EREs memungkinkan interaksi faktor transkripsi dan *co regulator* protein (*co-aktivator*, *co repressor*, *co-integrator*, *histone acetyltransferases* dan *dacetylases* dan faktor transkripsi umum (Matthews, 2003).

Pada sebuah penelitian dengan tikus transgenic menunjukkan fungsi ER secara spesifik. Organ reproduksi pada umumnya dipengaruhi oleh E2 yang berperan penting pada terjadinya kehamilan. Pada tikus betina dengan α ERKO (ER α) infertilitas terjadi akibat kegagalan untuk merespon estrogen di uterus yang merupakan organ sentral untuk reproduksi dan kehamilan. ER α sangat penting untuk pematangan uterus tetapi bukan untuk pengembangannya. Tikus betina α ERKO memiliki penurunan jumlah kelenjar di endometrium sedangkan tikus betina β ERKO memiliki jaringan uterus dan vagina normal namun terjadi infertilitas akibat fungsi ovarium yang abnormal (Lee *et al.*, 2012).

Eksresi ER β ditemukan dalam nukleus seperti pada eksresi ER α . Ekspresi ER β pada zona fungsional endometrium lebih lemah dan kurang kuat daripada



ER α . Pada jaringan seluler ER β di endometrium memiliki pola immunostaining konsisten pada semua sel kelenjar, stroma dan vascular semuanya mengekspresikan ER β . Kehadiran ER β pada sel stroma yang terletak dekat dengan otot polos pembuluh darah selama periode preovulasi menunjukkan peran khusus dari reseptor selama desidualisasi. Selain nucleus, sel epitel kelenjar dan stroma, ekspresi ER vascular tertinggi selama periode periovulasi, menunjukkan regulasi oleh estradiol dan peran dalam fungsi vascular. ER β memiliki peran penting dalam fungsi endometrium selain peran ER α dalam proliferasi dan diferensiasi endometrium (Lecce *et al.*, 2001).

2.4 Endometrium

2.4.1 Pengertian

Endometrium adalah lapisan mukosa rongga uterus yang merupakan target endokrin dan kelenjar dari saluran reproduksi (Heffner and Schust, 2010).

Saluran reproduksi wanita terbentuk sejak dalam kandungan, dimana pada minggu ke 10 ujung kaudal membentuk uterus primordial dan bagian atas vagina.

Rahim primordial awalnya dilapisi oleh epitel kuboid sederhana yang kemudian menjadi kolumnar dan pseudostratified. Di bawah epitel ini terletak mesenkim kental yang menghasilkan stroma endometrium dan myometrium. Pada minggu ke 22 kehamilan uterus telah terbentuk sempurna. Aktivitas sekresi kelenjar akumulasi glikogen dan edema stroma terlihat pada minggu ke 32 di bawah pengaruh hormon steroid yang dihasilkan plasenta. Setelah melahirkan dengan penurunan estrogen dan progesteron yang tiba-tiba, endometrium mengalami atrofi yang mengandung beberapa kelenjar caliber kecil dan stroma dengan vaskularisasi yang buruk (Strauss and Barbieri, 2013).

Estradiol merupakan hormon yang memediasi pertumbuhan uterus melalui ER α yang konsentrasinya paling tinggi selama siklus pada fase proliferasi



dan menurun setelah ovulasi sebagai respon terhadap meningkatnya progesteron.

Dalam imunohistokimia ditemukan reseptor estrogen dalam nucleus sel epitel, stroma dan myometrium selama fase proliferasi dengan pewarnaan sel epitel ditemukan paling menonjol. Setelah kadar progesteron meningkat pada fase luteal pewarnaan reseptor estrogen terbatas pada kelenjar basal dan vascular otot polos. Studi hibridisasi in situ menunjukkan bahwa transkrip ER α dan ER β diekspresikan dalam sel-sel epitel, stroma, dan otot halus pada semua tahap siklus reproduksi (Melmed, 2016).

2.4.2 Fungsi Endometrium

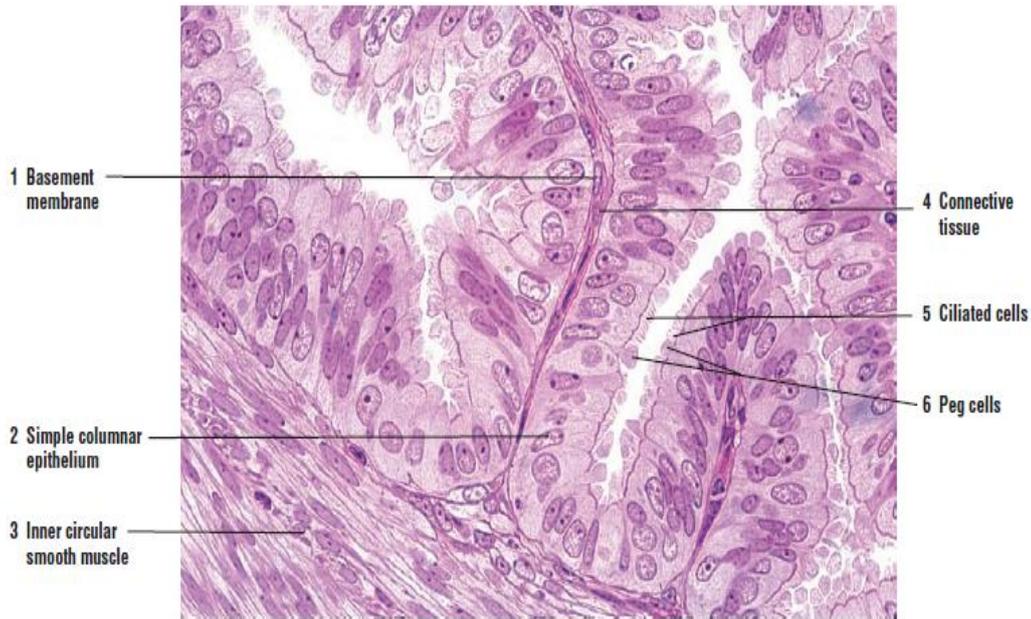
Dalam setiap fasenya endometrium selalu mengalami perubahan sesuai dengan fase reproduksi yang dialami. Strauss dan Barbieri (2013) menyatakan endometrium dalam reproduksi wanita memiliki peran yang sangat penting yaitu,

1. Menyediakan tempat yang cocok untuk implantasi embrio dan kondisi lingkungan yang dapat membantu janin selama kehamilan. Implantasi embrio melibatkan serangkaian perubahan pada endometrium
2. Diferensiasi endometrium tergantung pada aksi hormon steroid yang bertindak melalui mekanisme yang kompleks dengan melibatkan sinyal molekuler
3. Endometrium mengalami fase yang terus berulang yaitu proliferasi, sekresi, dan menstruasi, hingga 400 kali selama kehidupan wanita, tanpa tanda-tanda penuaan yang pasti
4. Inflamasi pada endometrium dapat menyebabkan resistensi progesteron yang mungkin terlibat dalam terjadinya inflamasi dan keguguran

2.4.3 Lapisan Endometrium

Lapisan endometrium terdiri atas epitel dan lamina propia dengan kelenjar tubular simpleks. Endometrium dikelompokkan dalam dua zona yaitu lapisan fungsional dan lapisan basal. Lapisan fungsional akan luruh saat menstruasi dengan menebal dan menipis mengikuti siklus menstruasi. Sementara itu lapisan

basal yang dekat dengan myometrium merupakan lapisan yang berperan dalam regenerasi pada lapisan fungsional. Lapisan basal mengandung lumina propia dan bagian awal kelenjar uterus (Campbell Neil *et al.*, 2010).



Gambar 2.4 Histologi dinding tuba uterus pada lapisan epitel dengan HE pada pembesaran 130kali

Keterangan : Dinding tuba pada uterus dilapisi oleh epitel sederhana (2). Epitel luminal terdiri atas dua jenis sel, sel bersilia (5) dan sel pasak tidak bersilia (6) dengan tonjolan apical yang membentang diatas silia. Membran baseman yang tipis (1) memisahkan epitel luminal (2) dari jaringan ikat yang mendasari vaskularisasi (4) yang membentuk inti lipatan mukosa. Sebagian dari lipatan otot polos melingkari bagian dalam yang mengelilingi tuba (Eroschenko and Di Fiore, 2013).

Jaringan epitel merupakan kumpulan sel yang memiliki susunan rapat yang membentuk lembaran dengan adhesi antar sel yang kuat untuk menutupi permukaan atau melapisi rongga. Sel epitel pada endometrium adalah selapis sel-sel silindris sekretoris dan sel bersilia. Sementara itu jaringan ikat lamina propia mengandung banyak fibroblast. Endometrium berhubungan erat dengan myometrium dan lapisan ini mengalami perubahan siklik sehingga gambaran mikroskopiknya akan berbeda tiap fasenya (Hestianah *et al.*, 2014).



Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

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

Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository

Reposit
Reposit



Gambar 2.5 Histologi dinding uterus pada fase proliferasi dengan HE (pembesaran 130 kali)

Keterangan :Permukaan endometrium dilapisi oleh epitel kolumnar sederhana (1) menutupi lamina propria (2). Epitel selaput (1) meluas kebawah ke jaringan ikat lamina propria (2) dan membentuk kelenjar uterus tubulus yang Panjang (4) biasanya pada fase proliferaive kelenjar rahim (4) lurus pada bagian superfisial endometrium, tapi dapat menunjukkan percabangan yang lebih pada daerah yang lebih dekat pada myometrium. Endometrium dibagi dalam dua zona yaitu lapisan basalis yang sempit dan dalam (8) yang berbatasan dengan myometrium dan lapisan fungsional (7) lapisan yang lebih luas dan dangkal diatas lapisan basalis (8) yang meluas ke lumen uterus (Eroschenko and Di Fiore, 2013).

2.4.4 Fisiologi Pertumbuhan Endometrium

Pertumbuhan dan perkembangan endometrium yang baru dimulai dengan siklus ovarium dimana endometrium akan disiapkan untuk menerima hasil ferlitisasi. Perubahan secara teratur pada endometrium mengikuti siklus ovarium.

Pada fase preovulasi atau folikuler, estradiol diekskresikan dalam jumlah yang cukup hingga menjelang ovulasi. Yang kedua pada fase postovulasi atau fase luteal, progesteron disekresikan oleh korpus luteum dalam jumlah yang meningkat (40-50 mg/hari) hingga pertengahan fase luteal. Fase ketiga yaitu 7-8 hari setelah ovulasi dimana progesteron dan estrogen mulai menurun dan kemudian berkurang secara progresif sebelum menstruasi (Melmed, 2016). Secara umum siklus endometrium dikelompokkan kedalam 5 fase utama yaitu

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

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

Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

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

Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

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

Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

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

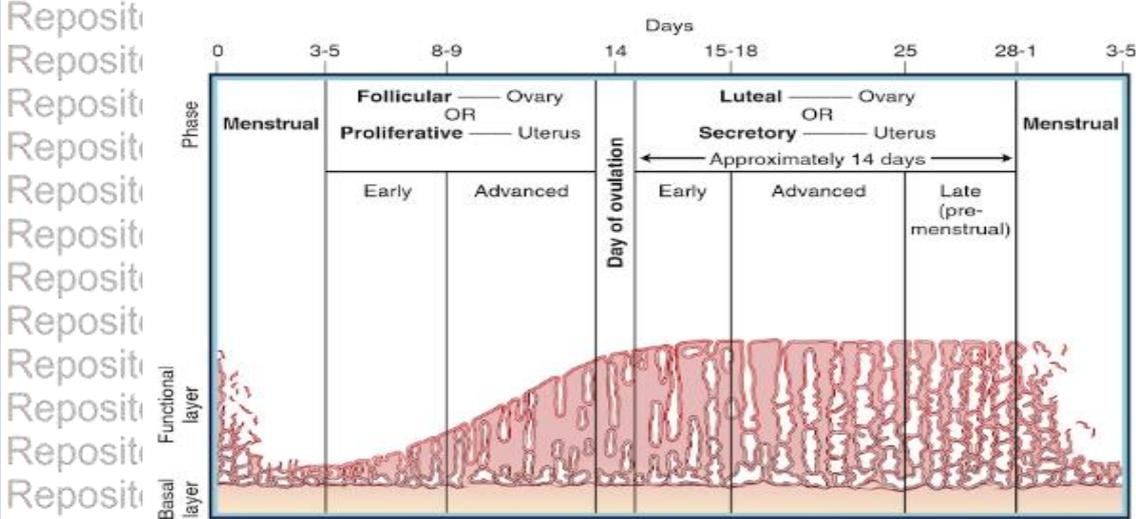
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository



Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

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

Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository



Gambar 2.6 Siklus perubahan endometrium

Keterangan : Pertama selama fase preovulasi/folikular, estradiol disekresikan dalam jumlah yang cukup hingga sebelum terjadinya ovulasi. Kedua selama fase postovula/luteal progesteron disekresikan oleh corpus luteum dalam jumlah yang banyak sampai fase midluteal. Ketiga laju progesteron dan sekresi estradiol sekitar 7 hingga 8 hari setelah ovulasi mulai menurun dan kemudian berkurang secara progresif sebelum menstruasi. Sehingga endometrium menyesuaikan dengan fase hormonal yang dibagi ke dalam 5 tahap yaitu Menstrual-postmenstrual *reepithelialization* (1), Proliferasi sel endometrium sebagai respon terhadap stimulant oleh estrogen (2), Sekresi epitel yang melimpah sebagai respon terhadap estrogen dan progesteron (3), Premenstrual iskemia hasil dari involusi jaringan endometrium (4), Menstruasi yang didahului oleh vasokonstriksi arteri spiralis endometrium, kolaps dan deskuamasi lapisan terdalam endometrium (5) (Melmed, 2016)

Proliferasi endometrium dapat dipicu dengan kehadiran estrogen. Jumlah estrogen yang dapat memicu proliferasi endometrium sekitar 50 hingga 100 pg/mL, sementara itu estrogen berkerja dengan reseptornya untuk membantu terjadinya proliferasi ini. Penurunan ER α pada saat implantasi secara fisiologis terjadi dan kegagalan penurunan ER α dikaitkan dengan ketidak seimbangan mekanisme pengatur hormon steroid dan berhubungan dengan resistensi progesteron, endometriosis, dan infertilitas. ER β diekspresikan pada hampir seluruh jaringan di tubuh dan berperan dalam fungsi endometrium. Sama halnya dengan ER α , ER β diregulasi oleh estrogen dan progesteron. Pada endometrium ER β diekspresikan pada kedua kelenjar dan stroma (Strauss and Barbieri, 2013).

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

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

Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

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

Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

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

Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

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

Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository

Repository Universitas Brawijaya
Repository Universitas Brawijaya

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

Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository
Repository



2.5 Fitoestrogen

2.5.1 Pengertian Fitoestrogen

Fitoestrogen merupakan senyawa alami dari tanaman yang memiliki struktur dan fungsi mirip dengan estrogen pada mamalia. Sebagian besar fitoestrogen merupakan senyawa fenolik. Isoflavon dan coumestans merupakan kelompok yang paling banyak diteliti. Isoflavon banyak ditemukan pada buah beri, anggur, biji-bijian dan kacang-kacangan (Bacciottini *et al.*, 2007).

Salah satu isoflavon yang banyak ditemukan adalah daidzein dan genestein yang merupakan senyawa dengan paparan yang baik. Pada makanan fitoestrogen ditemukan bermacam-macam, dimana isoflavon hanya dapat membentuk bagian kecil. Isoflavon secara alami ditemukan sebagai konjugat glikosida yang tidak aktif secara biologis yang mengandung glukosa atau moieties karbohidrat. Yang tidak terkonjugasi dari aglicone adalah bentuk bioaktif. Proporsi konjugat ke bentuk tak terkonjugasi sangat bervariasi diantara makanan, tetapi makanan kedelai yang difermentasi seperti miso atau tempe, sering mengandung kadar aglikon yang lebih tinggi daripada makanan berbahan dasar kedelai lainnya.

Setelah dikonsumsi, mereka cepat dimetabolism dan diserap. Memasuki sirkulasi sistemik terutama sebagai konjugat dengan bioavailabilitas terbatas. Misalnya genestein bebas biasanya mewakili hanya 1-3% dari total genestein plasma.

Isoflavon terkonjugasi kemudian mengalami sirkulasi enterohepatic dan kembali terpisah (*deconjugated*) oleh mikroba usus. Genestein dan daidzein dapat berasal dari glukosidanya atau dari biochanin A dan formononetin, masing-masing oleh aksi glucosidase usus (Mostrom and Evans, 2011).

2.5.2 Manfaat Fitoestrogen

Estrogen mempengaruhi pertumbuhan sel dan diferensiasi jaringan reproduksi perempuan dan laki-laki. Estrogen mengatur ovarium, testis, rahim, vagina, kelenjar susu, epididymis dan kelenjar prostat. Sementara itu fitoestrogen



mempengaruhi respon fisiologis yang berhubungan dengan reproduksi melalui berbagai mekanisme. Fitoestrogen dianggap sebagai estrogen lemah dengan aktivitas pada 10^{-2} – 10^{-3} dari 17beta estradiol, tetapi dapat di temukan dalam tubuh dua kali lipat lebih tinggi dari pada estrogen endogen (Bacciottini *et al.*, 2007).

Sejumlah fitoestrogen telah terbukti merangsang pertumbuhan uterus pada hewan coba. Fitoestrogen dapat memediasi efeknya dengan mengikat reseptor estrogen spesifik (ER) di sel target. Estrogen memainkan peran penting dalam fungsi fisiologis melalui mekanisme *genomic*. Fitoestrogen dapat memediasi efeknya dengan menyebar melalui membran sel dan mengikat reseptor estrogen spesifik (ER) di sel target (Prakash and Dubois, 2015).

Fitoestrogen dapat menurunkan konsentrasi estrogen melalui efek pada SHBG. Perubahan pada SHBG akibat fitoestrogen dapat mengubah fraksi bebas hormon endogen dalam sirkulasi baik secara local atau sistemik. Ganestein dapat mengubah pertumbuhan sel pada beberapa jalur signal transduksi, menghambat aktivitas protein tirosin kinase dan menurunkan autofosforilasi reseptor faktor pertumbuhan epidermal yang memfosforilasi residu tirosil *binding reseptor* dan aktivitas MAPK dan mitogen proliferasi pada sel otot polos aorta manusia.

Meskipun pada beberapa jalur pertumbuhan sel kanker dapat terhambat dan mengakibatkan efek proteksi, sejumlah fitoestrogen termasuk koagulan, ganestein, biochanin A, daidzein dan enterolactone, dapat menstimulasi proliferasi sel tergantung pada MCF-7 yang terkait estrogen (Bacciottini *et al.*, 2007).

2.5.3 Mekanisme Kerja Fitoestrogen

Penggunaan fitoestrogen melalui konsumsi oral melewati proses yang panjang dimana penyerapannya melewati saluran cerna, biotransmation, distribusi dan ekskresi dalam urine, empedu, feses dan susu. Panjangnya jalur yang dilewati fitoestrogen dapat mengakibatkan efek yang bervariasi tiap individu. Hal tersebut dipengaruhi spesies yang terpapar, seks, rute, dosis, dan durasi paparan serta



waktu paparan selama perkembangan dan siklus reproduksi. Kebanyakan fitoestrogen pada tumbuhan sebagai konjugat glikosida yang tidak aktif secara biologis dengan glukosa atau karbohidrat glikosida tanaman dapat dihidrolisis dan selanjutnya dapat dimetilasi dalam usus atau rumen oleh mikroba dan heterosiklik lenolik (aglikon) bebas dalam saluran pencernaan (Patisaul and Jefferson, 2010). Mostrom and Evans (2011) menunjukkan Mekanisme kerja fitoestrogen secara umum yaitu:

1. Efek genomic melalui pengikatan pada reseptor estrogen alfa dan beta yang menyebabkan gangguan endokrin
2. Efek non genomic melalui pengikatan ke reseptor membran steroid
3. Mempengaruhi metabolisme melalui penghambatan enzim dalam steroidogenesis (dehydrogenase 3beta dan 17beta-hydroxysteroid oxidoreductase tipe 1)
4. Stimulasi seks hormon binding globulin (SHBG)
5. Penghambat protein tirosin kinase yang berkaitan dengan signal transduksi dan proliferasi sel
6. Inhibisi DNA topoisomerase I dan II yang diperlukan untuk replikasi DNA
7. Menghambat matrix metalloproteinase 9 (MMP9) yang terlibat dalam pertumbuhan sel
8. Menurunkan dan mengatur ekspresi *endothelial growth factor* (VEGF) yang terlibat dalam pertumbuhan gen faktor dan angiogenesis
9. Menghambat sintesis prostaglandin melalui lipoxygenase dan cyclooxygenase 2 dan menunjukkan aktivitas antioksidan

Estradiol dan enterolactone adalah lignan aktif yang dibentuk oleh mikroba dalam saluran usus dan tanaman lignans matairesinol dan secololariciresi dan glikosidanya. Kebanyakan fitoestrogen terhidrolisis dikonjugasi oleh asam glukoronat (pecahan kecil terkonjugasi dengan salthin) dalam epitelium pada



mekanisme usus yang merupakan mekanisme utama untuk ditosisifikasi fitoestrogen. Sebagian kecil dari senyawa bebas yang dihidrolisis diserap melalui mukosa usus atau rumen dan mencapai sirkulasi darah yang tidak terkontrol. Fitoestrogen yang tidak terkonjugasi mencapai sirkulasi dikonjugasi oleh hati dan jaringan lain termasuk ginjal. Senyawa fitoestrogen bebas berada diseluruh tubuh dan dapat dideteksi dalam serum, empedu dan urine. Setelah dikonsumsi seperti halnya estrogen endogen, fitoestrogen juga mengalami sirkulasi enterohepatic (Mostrom and Evans, 2011).

2.6 Bengkoang

2.6.1 Pengertian Bengkoang



Gambar 2.7 Bengkoang

Bengkoang merupakan salah satu tanaman yang sangat populer dikalangan masyarakat dan banyak dibudidayakan oleh penduduk Indonesia sebagai tanaman lokal. Bengkoang adalah tanaman yang berasal dari Amerika tropis terutama Meksiko dan kerap dijadikan sebagai tanaman obat oleh suku Aztek. Bengkoang masuk ke Indonesia pada abad ke 17 melalui Ambon dan dibudidayakan hingga sekarang terutama di pulau Jawa dan Madura. Bengkoang juga dikenal sebagai buncis kentang atau sengkung di Malaysia. Bengkoang dapat tumbuh dengan baik di daerah tropis dan sub tropis dengan ketinggian 500-900 mdpl.



Table 2.1 Taksonomi Bengkoang (*P.Erosus*) (Sørensen, 1996)

Klasifikasi	Jenis
Kingdom	Plantae
Sub kingdom	Viridiplantae
Infra kingdom	Strephyta
Super divisi	Embryophyte
Divisi	Tracheophyte
Sub devisi	Spermatophyte
Kelas	Magnoliopsida
Super ordo	Rosanae
Ordo	Fabeles
Family	Fabaceae
Genus	<i>Pachrhizus rich ex DC</i>
Spesies	<i>Pachyrhizuz erosus (L) Urb</i>

2.6.2 Morfologi

Bengkoang merupakan tanaman berbentuk umbi atau umbi akar dengan bentuk bulat. Bengkoang memiliki kulit yang tipis dengan bagian dalam berwarna putih dan memiliki kandungan air yang tinggi (80-90%). Umbi bengkoang dapat memiliki berat 3kg dengan diameter 10-30 cm. Bengkoang merupakan buah yang memiliki kandungan zat gizi yang banyak dibutuhkan oleh tubuh terutama vitamin dan mineral misalnya vitamin C, fosfor, zat besi, kalsium dan lainnya. Kadar air dalam bengkoang yang cukup tinggi memberikan efek menyegarkan bagi tubuh. Dalam 100gr bengkoang mengandung (Kisambira *et al.*, 2015)

Tabel 2.2 Nilai Gizi Bengkoang

Nutrisi	Kandungan
Energi	55 klaori
Protein	1,4 gram
Lemak	0,2 gram
Karbohidrat	12,8 gram
Inulin	2,6 gram
Kalsium	15 mg
Fosfor	18 mg
Vitamin b1	0,04 mg
Vitamin c	20 mg
Besi	0,6 mg

Tanaman bengkoang merambat dan pohonnya dapat mencapai 5 meter.

Daun bengkoang memiliki tiga lobi berbentuk menyirip dengan ujung meruncing



dengan ukuran tangkai 8-17 cm. Bunga bengkoang berwarna putih hingga violet.

Bengkoang ditanam dengan menggunakan bijinya. Biji bengkoang ditanam 100x30cm pada gundukan tanah yang terpisah jarak 1-1,3 m per biji (Sørensen, 1996).

Bengkoang mengandung senyawa isoflavon yang mirip 17 β estadiol, dengan komponen terbesar senyawa daidzein dan genistein. Isolasi senyawa yang dilakukan oleh Lukitaningsih (2009) ditemukan 4 senyawa tergolong fitoestrogen dalam umbi bengkoang yaitu daidzein, daidzein-7-O-beta-glukopiranosida, 5-hidroxy-daidzein-7-O-beta-lucopyranosida, dan (8,9)-furanil-pterocarpan-3-ol. Bengkoang dapat digunakan sebagai estrogen alami yang dapat meningkatkan proliferasi dan maturitas folikel ovarium dan proliferasi sel endometrium. Dalam penelitian dengan menggunakan bengkoang ditemukan bahwa bengkoang dengan dosis 140mg/200gram berat badan pada tikus memiliki pengaruh positif dalam ketebalan endometrium. (Primiani, 2015).

2.7 Tikus Wistar

2.7.1 Klasifikasi Tikus Wistar

Tikus wistar atau *Rattus norvegicus* dikenal juga dengan tikus norwegia yang merupakan salah satu hewan coba yang digunakan di laboratorium. Tikus digolongkan dalam kelas mamalia, bangsa rodentia yang memiliki adaptasi yang baik. Klasifikasi *Rattus norvegicus* memiliki karakteristik taksonomi sebagai berikut (De Sharp and Villano, 2013).

Tabel 2.3 Klasifikasi *Rattus norvegicus*

Klasifikasi	Jenis
Kingdom	Animalia
Filum	Chordata
Kelas	Mamalia
Ordo	Rodentia
Subordo	Myomorpha
Family	Muridae
Genus	<i>Rattus</i>
Spesies	<i>Rattus norvegicus</i>



Tikus putih merupakan hewan coba yang memberikan keuntungan diantaranya perkembangbiakannya yang cepat, ukuran tubuh yang lebih besar dari pada mencit dan mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak. Tikus putih memiliki struktur yang mirip manusia, pertumbuhannya cepat, tempramen baik, kemampuan bertahan yang cukup baik terhadap perlakuan. Tikus putih memiliki beberapa macam galur yang paling sering digunakan untuk penelitian adalah tikus putih galur wistar, sprangue dawley, Osborne-mendel, long-evans, Holtzman, slonaker, dan Albany (Krinke, 2000; Suprihatin, 2008).

Table 2.4 Data Biologis Tikus Putih (Suprihatin, 2008)

Karakteristik	Nilai
Berat lahir	5-6 g
Berat badan dewasa jantan	300-400 g
Berat badan dewasa betina	250-300 g
Lama hidup	2-3 tahun
Konsumsi makanan perhari	10g/100 g bb
Konsumsi air minum tikus dewasa	20-45 ml/hari
Umur pubertas (betina)	50-60 hari
Umur kawin jantan	8-9 minggu
Umur kawin betina	8-9 minggu
Lama siklus ekstras	4-5 hari
Lama ekstras	9-20 jam
Lama kebuntingan	20-22 hari
Jumlah anak per kelahiran	6-12 ekor anak
Umur sapih	21 hari
Berat lepas sapih	20-30 gram

2.7.2 Reproduksi Tikus Wistar

Tikus putih merupakan jenis hewan poliestrus yang memiliki siklus reproduksi yang berulang selama setahun. Proses reproduksi tikus dipengaruhi berbagai faktor diantaranya suhu, status nutrisi, dan hubungan sosial. Dalam satu siklus tikus putih dapat selesai dalam 6 hari. Untuk pemeriksaan kondisi reproduksinya dapat dilakukan pemeriksaan apusan vagina untuk mengetahui fungsi ovarium dimana diferensiasi sel epitel vagina yang secara tidak langsung mencerminkan perubahan fungsional ovarium (De Sharp and Villano, 2013).



Proses reproduksi dimulai pada saat memasuki masa pubertas. Pada awal masa pubertas terjadi perubahan pada sistem reproduksi akibat pengaruh hormon yang bekerja pada gonadotropin dan hormon yang dihasilkan. Pubertas ditandai dengan hewan jantan atau betina mampu memproduksi benih dan mampu berkembangbiak. Pada hewan betina pubertas ditandai dengan adanya birahi dan ovulasi dimana terjadi estrus dengan siklus yang teratur dan khas. Hamid dan Zakaria (2013) membagi Siklus reproduksi tikus dalam 4 fase yaitu:

1. Proestrus

Proestrus merupakan fase dimana sebelum terjadinya estrus saat folikel ovarium tumbuh menjadi folikel de graaf di bawah pengaruh FSH.

Proestrus berlangsung 12 jam, folikel tumbuh selama 2-3 hari sebelum persiapan pelepasan ovum pada ovarium. Sementara itu sekresi estrogen semakin meningkat sehingga timbul perubahan fisiologis, perubahan birahi pada hewan peliharaan, pertumbuhan folikel, pertumbuhan endometrium, uteri dan serviks serta vaskularisasi epitel vagina. Preparat apus vagina pada fase proestrus ditandai akan tampak jumlah sel epitel berinti dan sel darah putih berkurang, digantikan dengan sel epitel, bertanduk dan lender yang banyak.

2. Estrus

Masuknya fase estrus ditandai dengan kopulasi hewan jantan dan betina yang berlangsung 12 jam. Pada fase ini folikel de Graf membesar dan matang, estrogen meningkat dan aktivitas hewan meningkat, telinga bergerak, punggung lordosis. Ovulasi terjadi menjelang akhir siklus ekstras.

3. Metestrus

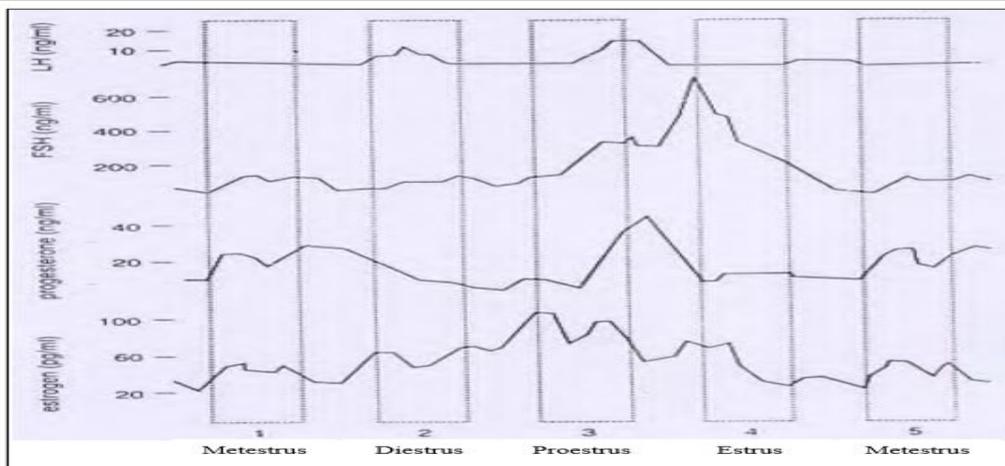
Setelah estrus, akan diikuti fase metestrus dimana corpus luteum berkembang dengan cepat dari sel granulosa folikel yang pecah akibat pengaruh LH dan *adenohypopysa*. Metestrus berada dibawah pengaruh



progesteron yang berasal dari korpus luteum. Selama fase ini uterus dipersiapkan untuk memenuhi kebutuhan embrio.

4. Diestrus

Fase ini merupakan fase terlama dalam siklus reproduksi tikus. Fase ini berlangsung 48 jam dimana ditandai dengan korpus luteum menjadi matang dan dipengaruhi progesteron. Endometrium semakin tebal dan kelenjar menjadi berhipertrofi. Serviks menutup dan lendir vagina mulai sedikit dan lengket, selaput mukosa vagina pucat dan otot uterus mengendor. Endometrium dan kelenjarnya mengalami atrofi dan kembali ke ukuran semula hingga akhirnya folikel kembali terbentuk dan kembali ke proestrus.



Gambar 2.8 Perubahan kadar hormon pada tikus

Keterangan : Siklus reproduksi tikus dibagi dalam 4 fase yaitu proestrus, estrus, metestrus, dan diestrus. Siklus estrus dipengaruhi oleh hormone FSH dan LH yang dihasilkan di hipofise anterior, serta hormon steroid (estrogen dan progesteron yang di produksi di ovarium. Pengaturannya berlangsung melalui hipotalamus, hipofisis dan ovarium. Dimana kadar hormon selalu mengalami perubahan selama siklus estrus (Suprihatin, 2008)

Siklus reproduksi meliputi siklus ovarium, siklus endometrium uterus, siklus vagina dan siklus kelenjar mammae. Secara fisiologis siklus ini sangat berkaitan antara yang satu dengan yang lainnya. Siklus reproduksi dibagi menjadi fase folikuler dan fase luteal. Fase folikuler terjadi perkembangan folikel sampai mencapai kematangan hingga terjadi ovulasi, fase ini dipengaruhi hormon



estrogen. Fase luteal terjadi sekresi hormon progesteron yang berasal dari korpus luteum, dan terjadi setelah ovulasi (Suprihatin, 2008).

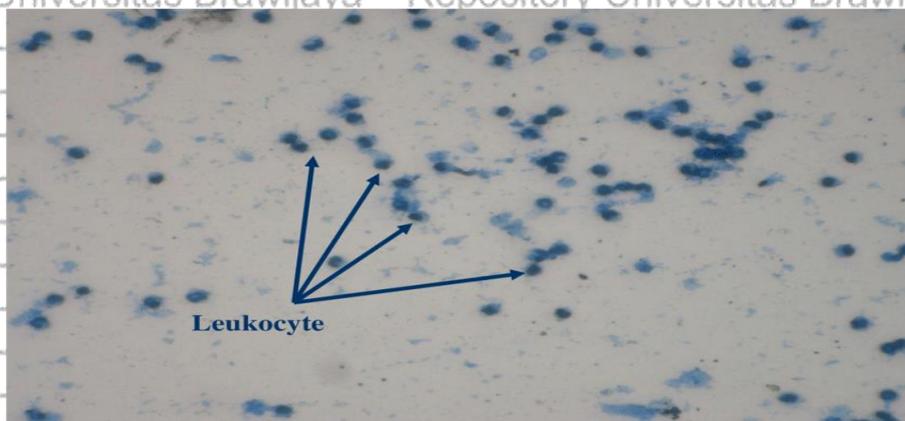
Siklus estrus sangat dipengaruhi hormon steroid yang berasal dari ovarium.

Hormon berfungsi mempertahankan homeostasis tubuh, membantu reaksi tubuh terhadap stres dengan bekerja pada sistem saraf, mengatur pertumbuhan dan perkembangan tubuh, dan mengontrol perkembangan seksual dan reproduksi.

Estrogen merupakan senyawa steroid yang berperan dalam reproduksi betina dan bertanggung jawab terhadap pertumbuhan dan perkembangan vagina, uterus, dan fungsi ovarium. Terdapat tiga jenis estrogen utama pada tikus betina yaitu estron, estradiol, dan estriol. Kadar estrogen dalam darah tikus yaitu 100-800pg/mL (Prayogha, 2012).

2.7.3 Pemeriksaan Apusan Vagina

Untuk menentukan tahapan siklus estrus pada tikus laboratorium dapat dilakukan evaluasi mikroskopis dari jenis sel dalam apusan vagina. Hal ini sekaligus sebagai indeks status fungsional dari kerja antara hipotalamus hingga ovarium pada sistem reproduksi tikus. Pemeriksaan apusan vagina yang dilakukan secara berturut-turut selama periode waktu tertentu dapat memberikan informasi rinci tentang siklus estrus (De Sharp and Villano, 2013).



Gambar 2.9 Apusan vagina pada tikus

Keterangan : Apusan vagina dengan ovariectomi pada tikus menunjukkan jumlah leukosit yang banyak pada pewarnaan dengan methylene blue pada pembesaran 40 kali (Parhizkar, Latiff, Sabariah Abdul Rahman, *et al.*, 2011)



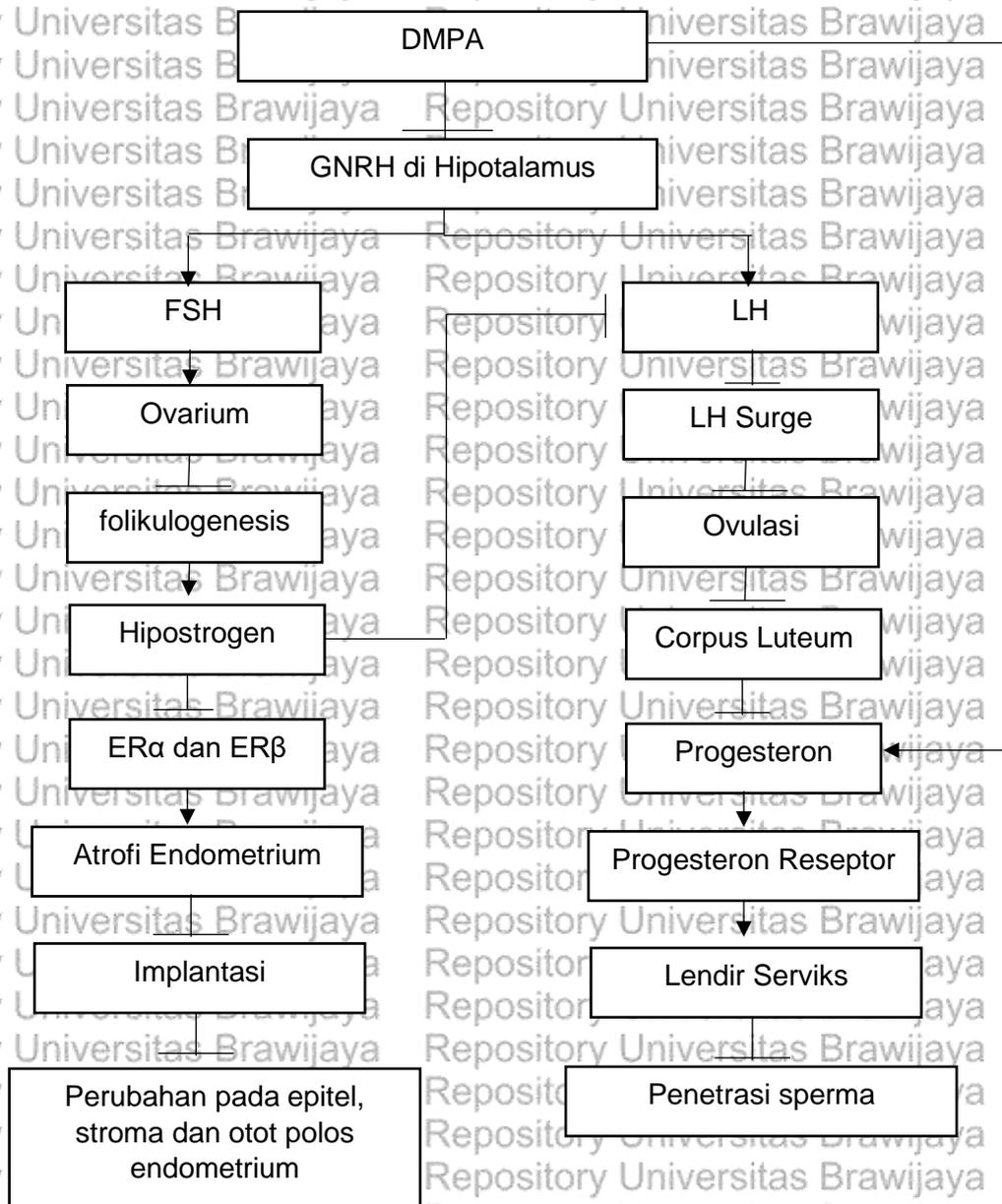
Tahapan siklus sel pada vagina tikus berkaitan dengan perubahan pada fungsi organ reproduksinya, misalnya ovarium dan uterus (De Sharp and Villano, 2013). Kondisi hipoestrogen akan mengakibatkan epitel tidak berkembang biak dan bertambah besar ukurannya. Apusan vagina menunjukkan jumlah leukosit yang banyak akibat epitel yang berkurang ke dalam vagina (Hamid and Zakaria, 2013).



BAB 3

KERANGKA TEORI DAN KONSEP PENELITIAN

3.1 Kerangka Teori



Gambar 3.1 Kerangka Teori

Keterangan

→ Mempengaruhi

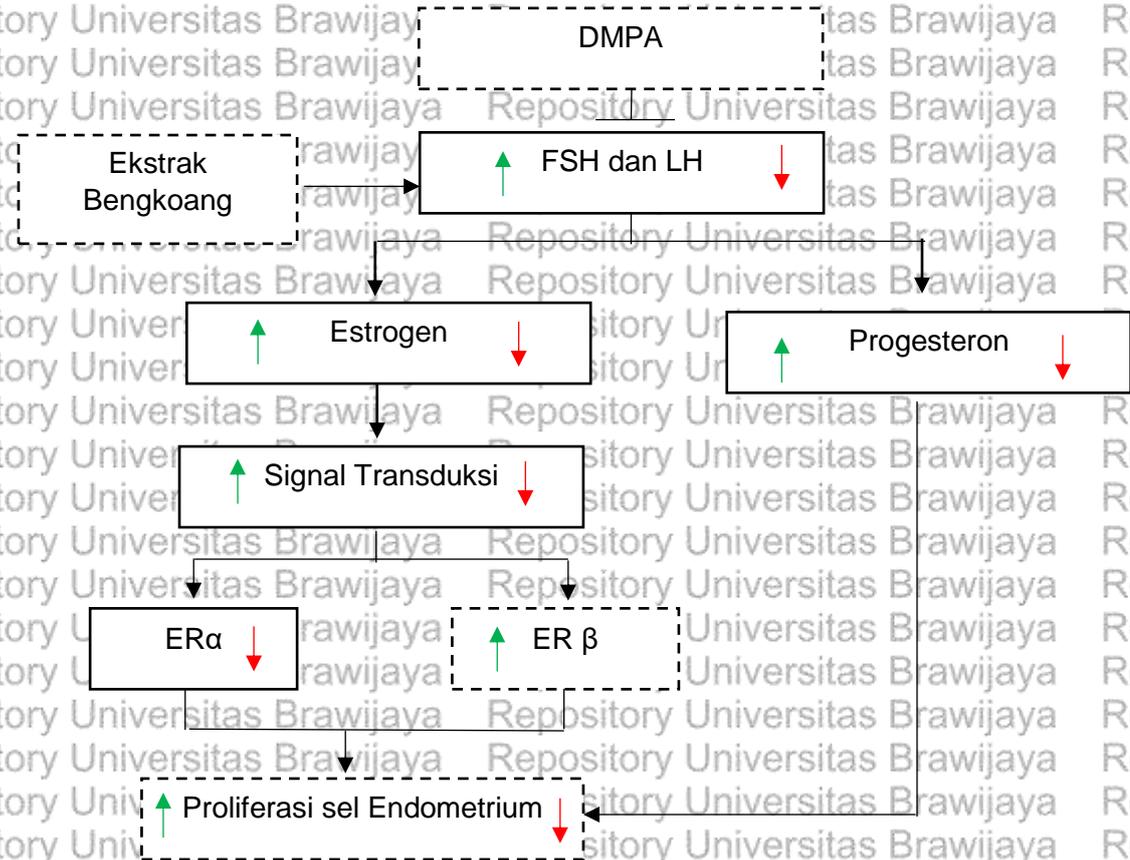
⇐ Menghambat



DMPA berisi progesterin sintesis yaitu 17-acetoxypogesteron yang diinjeksikan kedalam tubuh yang akan masuk ke sirkulasi dan dimetabolisme secara cepat pada manusia (Shoupe and Kjos, 2006). DMPA bekerja dengan menghambat ovulasi, meningkatkan viskositas lendir serviks dan menipiskan endometrium. Setelah diinjeksikan, DMPA bekerja dengan mencegah terjadinya LH surge dan ovulasi dimulai dengan menghambat GnRH dihipotalamus (Strauss and Barbieri, 2013). Hal ini mengakibatkan produksi FSH dan LH menjadi menurun. FSH yang berkurang akan mengakibatkan penurunan produksi estrogen pada sistem reproduksi sehingga mengakibatkan terganggunya fungsi ovarium dan endometrium. Kadar estrogen yang rendah mengakibatkan efek umpan balik pada hipofise tidak dapat memproduksi LH yang cukup untuk merangsang terjadinya LH Surge (Speroff and Darney, 2010). Akibat terhambatnya LH surge ovulasi tidak dapat terjadi akibat tidak adanya sel telur yang matang. Folikulegenesis yang tidak terjadi mengakibatkan Corpus luteum tidak terbentuk dan hormon estrogen alami dalam tubuh tidak diproduksi. Progesteron yang berasal dari progesteron sintesis dari DMPA kemudian merangsang terjadinya perubahan pada endometrium dan lendir serviks untuk mencegah terjadinya kehamilan. Estrogen yang rendah mengakibatkan reseptor estrogen menjadi inaktif dan tidak mampu memicu proliferasi jaringan endometrium. Penggunaan DMPA menyebabkan hipoestrogen yang mempengaruhi endometrium dengan menyebabkan atrofi pada jaringan endometrium. Terjadinya penipisan jaringan endometrium ini akibat adanya transformasi pada epitel endometrium, sehingga implantasi tidak dapat terjadi.



3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

Keterangan

- = Mempengaruhi
- = Menghambat
- = Variabel yang diteliti
- = Tidak diteliti
- = Pengaruh DMPA
- = Pengaruh Bengkoang

Tikus akan di beri paparan injeksi DMPA selama 12 hari untuk menyesuaikan dengan pemberian DMPA pada manusia selama satu tahun. DMPA dapat menekan kerja hipotalamus sehingga mengakibatkan terhambatnya pelepasan hormon FSH dan LH dengan demikian estrogen dan progesteron menjadi berkurang. Progesteron menghambat pelepasan LH sehingga mencegah terjadinya ovulasi, paparan progesteron sintetik yang diinduksi ke tubuh mengakibatkan kadar progesteron dalam tubuh meningkat, sehingga estradiol dalam tubuh tidak meningkat secara signifikan. Pada siklus normal kadar



konsentrasi FSH yang menetap akan merangsang folikel tersier untuk menjadi folikel de graaf, lapisan pada sel teca dan sel granulosa akan menghasilkan estrogen. Sehingga estrogen alami dalam tubuh dapat diproduksi dan korpus luteum terbentuk (Speroff and Darney, 2010). Paparan *Depomedrosiprogesteron acetat* dalam waktu lama akan menurunkan kadar estrogen dalam tubuh sehingga butuh waktu untuk pemulihan siklus hormonal alami dalam tubuh (Haider and Darney, 2007).

Penurunan estrogen alami dalam tubuh akan mengakibatkan reseptor estrogen menjadi *inactive*. ER α lebih sensitif terhadap estrogen endogen (estradiol) sementara ER β lebih sensitif pada estrogen alami seperti fitoestrogen. Namun jika ekspresi ER α menurun dapat digantikan oleh ER β sehingga kerja keduanya saling mempengaruhi (Deroo *et al.*, 2006). Perubahan endometrium mengikuti siklus ovarium dimana endometrium disiapkan untuk menerima hasil fertilisasi, proliferasi sel endometrium dipengaruhi oleh estrogen dengan bekerja pada reseptornya.

Pemberian ekstrak bengkoang yang mengandung fitoestrogen memiliki fungsi membantu proses proliferasi sel pada endometrium (Ford *et al.*, 2006). Fitoestrogen dapat menimbulkan efek seperti estrogen alami, pada kadar estrogen rendah maka akan menimbulkan efek estrogenik. Adanya efek estrogenik ini diharapkan tidak menyebabkan hipoestrogen dalam tubuh, sehingga meminimalkan efek penggunaan DMPA dan merangsang pemulihan untuk kembali ke masa subur akan lebih cepat. Fitoestrogen akan berikatan dengan ER β untuk merangsang terjadinya proliferasi sel. Sel epitel pada endometrium akan berkembang baik ukuran maupun jumlahnya akibat pengaruh fitoestrogen pada bengkoang.



3.3 Hipotesis

3.3.1 Pemberian DMPA menurunkan ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium pada tikus hipoestrogen dengan DMPA.

3.3.2 Pemberian ekstrak Bengkoang meningkatkan ekspresi ER β pada tikus hipoestrogen dengan DMPA.

3.3.3 Pemberian ekstrak Bengkoang meningkatkan jumlah epitel endometrium pada tikus hipoestrogen dengan DMPA.

3.3.4 Ada korelasi antara dosis ekstrak bengkoang, ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium pada tikus hipoestrogen dengan DMPA



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental* yang bertujuan untuk menemukan *cause-effect relationships* dari variabel-variabel penelitian.

Penelitian ini dikatakan *true experimental* karena memenuhi tiga prinsip yaitu replikasi, randomisasi, dan adanya control.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Kriteria Pengambilan Sampel

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur *Wistar* yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Tikus putih dipilih sebagai sampel penelitian karena memiliki karakteristik genetik, biologis, dan perilaku yang mirip dengan manusia, serta banyak gejala kondisi manusia dapat direplikasi pada tikus. Tikus yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus model hipoestrogen dengan DMPA.

4.2.2 Besar Sampel

Besar sampel untuk penelitian *experimental* secara sederhana dapat dirumuskan dengan $(t - 1)(r - 1) > 15$ dimana t merupakan jumlah perlakuan dan r merupakan jumlah replikasi (Supranto, 2000). Pada penelitian ini ditetapkan 5 kelompok perlakuan, sehingga nilai r :

$$\begin{aligned}(5 - 1)(r - 1) &> 15 \\ (r - 1) &> 15/4 \\ r &> 4,75 \approx 5\end{aligned}$$

Dari hasil perhitungan menggunakan rumus di atas, didapatkan jumlah sampel hewan coba untuk tiap kelompok baik kelompok perlakuan maupun kontrol sebanyak 5 ekor tikus. Jadi, besar sampel dalam penelitian ini adalah 25 ekor tikus.



Teknik sampling yang digunakan adalah dengan menggunakan Teknik simple random sampling

Untuk mengantisipasi kemungkinan hewan coba mati pada kelompok penelitian, maka dilakukan koreksi dengan $1 / (1 - f)$, dimana f adalah proporsi sampel yang hilang sebesar 10% (Lameshow & Lwanga, 1990). Berdasarkan rumus tersebut didapatkan jumlah replikasi $1 / (1 - 0,1) = 1.11 \approx 1$. Sehingga pada kelompok penelitian masing-masing ditambahkan 1 ekor tikus.

4.2.3 Kriteria Inklusi dan Eksklusi

4.2.3.1 Kriteria Inklusi

1. Jenis kelamin betina
2. Usia 8 – 10 minggu
3. Berat badan 160 – 225 gram
4. Kondisi sehat dan bergerak aktif

4.2.3.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus bunting
2. Tikus tidak mau makan dan minum yang disediakan
3. Tikus mati selama penelitian

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Institut Biosains Universitas Brawijaya untuk pemeliharaan hewan coba, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk HE dan pemeriksaan Imunohistokimia, serta UPT Materia Medica Kota Batu untuk pembuatan ekstrak bengkoang. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Februari – Mei 2019.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Independen (Bebas)

Pemberian ekstrak bengkoang (*Pachyrhizus erosus*)



4.4.2 Variabel *Dependen* (Tergantung)

1. Ekspresi ER β
2. Jumlah epitel endometrium

4.5 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Skala Data
DMPA	Kontrasepsi yang berisi 150 mg hormon progesteron sintetik yang diberikan ke tikus secara injeksi subkutan dengan dosis 0,2 ml (2,7 mg) setiap 3 hari sebanyak 4 kali penyuntikan. Pemberian dosis disesuaikan dengan pemberian DMPA pada wanita setiap 3 bulan selama 1 tahun.	
Ekstrak bengkoang (<i>Pachyrhizus erosus</i>)	Ekstrak bengkoang (<i>Pachyrhizus erosus</i>) diperoleh dari bengkoang varietas lokal yang didapat dari Kecamatan Kayen Kidul, Kabupaten Kediri, Jawa Timur lalu diproses dengan metode maserasi. Ekstrak dibuat dari bengkoang muda yang baru dipanen sebanyak 6kg dengan hasil simplisia kering 300g dan ekstrak etanol sebanyak 34ml (34,3g). Ekstrak bengkoang diberikan dalam dosis 70 mg/200gBB, 140mg/200g BB, dan 280mg/200gBB setiap hari selama 14 hari dengan dilarutkan pada 1cc air dan diberikan melalui sonde	Ordinal
Ekspresi ER β	Jumlah sel yang mengekspresikan ER β dengan menggunakan <i>IHC</i> pada sel epitel dan stroma endometrium dengan antibodi ER β merek <i>Santacruz SC-390243</i> yang hasilnya dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali pada 5 lapang pandang. Sel yang mengekspresikan ER β akan berwarna kecoklatan dimana ekspresinya dinilai dengan menggunakan <i>Proportion score</i> dengan melihat rata-rata persentasi sel yang terwarnai perlapang pandang	Rasio
Jumlah epitel endometrium	Penghitungan jumlah epitel permukaan dan kelenjar pada endometrium yang dipotong secara vertical kemudian dibuat <i>slide</i> histopatologi dan dilakukan pewarnaan <i>Haematoxylin Eosin</i> (HE) kemudian dihitung jumlah epitel dengan menggunakan <i>Dotslide Microscope Olympus XC 10</i> dengan pembesaran 400 kali pada 5 lapang pandang	Rasio

4.6 Bahan dan Alat

Penelitian ini akan menggunakan sampel sebanyak 30 ekor tikus betina galur *Wistar* yang sehat dengan umur 8-10 minggu dan berat 160-225 gram yang diperoleh dari Daerah Istimewa Yogyakarta. Hewan coba diinjeksikan dengan DMPA secara subkutan dengan dosis 2,7 mg. DMPA yang digunakan ada DMPA



yang dikeluarkan oleh BKKBN (Badan Kependudukan dan Keluarga Bencana Nasional).

Bahan ekstrak menggunakan bengkoang lokal yang didapatkan dari kecamatan Kayen Kidul, Kabupaten Kediri, Jawa Timur. Proses pengeringan dan ekstraksi bengkoang dilakukan di UPT Materia Medica Kota Batu, Jawa Timur.

Pengukuran parameter untuk ekspresi Estrogen Reseptor Beta ER β menggunakan imunohistokimia untuk spesies *Rattus Norvegicus* dengan antibody ER β dari Santa Cruz SC-390243sample dan kit imunohistokimia dari Skytek.

Sedangkan untuk penghitungan jumlah epitel endometrium dilakukan pewarnaan dengan *Haematoxylin Eosin* (HE) dan diamati dengan menggunakan *Dotslide Microscope Olympus XC10*.

Berikut uraian bahan dan alat yang digunakan pada penelitian ini

4.6.1 Ekstraksi bengkoang menggunakan bengkoang, oven, blender, pelarut ethanol 96%, timbangan, thimble, kondensor, pengaduk, botol timbangan, oven

4.6.2 Pengambilan organ menggunakan ketamine, alat bedah minor (pinset, scapel, gunting), Kapas alcohol, Buffer formalin 10%, toples kaca tertutup, wadah penyimpanan jaringan sementara, papan meja operasi.

4.6.3 Pembuatan slide histopatologi menggunakan Formalin 10%, Air, Natrium klorida (NaCl), Xylol, Paraffin cair, Etanol (70%, 80%, 90%, 100%), Alcohol asam 1%, Air ammonia, Tissue tex prosesor, Mikrotom, Waterbath, incubator, *paraffin embedding*, *station automatic stainer*.

4.6.4 Penghitungan Jumlah Epitel dengan Pewarnaan *Hematoxylin eosin* menggunakan Dot slide mikroskop Olympus XC 10 dihitung pada 5 lapang pandang pembesaran 400 kali.

4.6.5 Penghitungan Ekspresi ER β dengan Imunohistokimia dengan antibody ER β dari santa cruz dengan nomor katalog SC-390243sample, Kit



Imunohistokimia dari Skytek, Dot slide mikroskop Olympus XC 10 dengan kamera optilab 12 megapixel.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

1. Aklimatisasi

Aklimatisasi dilakukan selama 1 minggu untuk proses adaptasi tikus terhadap suasana laboratorium dan menghilangkan stres. Tikus tetap diberikan makan dan minum sesuai dengan standar. Tikus ditempatkan dalam kandang dengan suhu kamar (20-25 °C) dengan ukuran 20x30x40cm yang dialasi sekam padi setebal 0,5-1 cm. Sekam dibersihkan dan diganti setiap 2 hari sekali.

2. Pemeriksaan apusan vagina

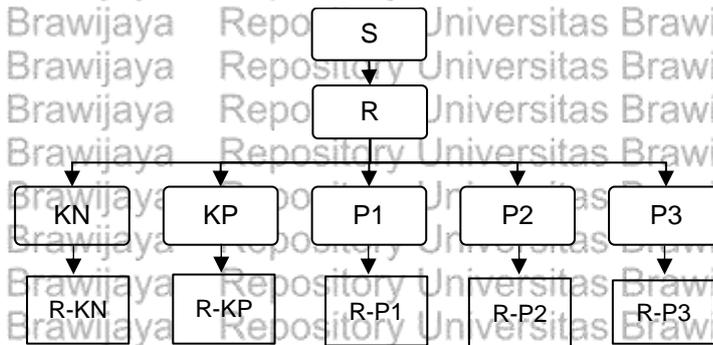
Apusan vagina bertujuan untuk menentukan fase estrus pada tikus. Hal ini dilakukan pada awal penelitian sebagai penanda tikus mulai dilakukan perlakuan dan hari terakhir waktu penelitian saat fase proestrus. Pengapusan vagina dilakukan dengan menggunakan *cotton bud* yang direndam *aquadest* sesaat sebelum digunakan. *Cotton bud* dimasukkan ke dalam vagina dan diputar 360°. Hasil apusan dioleskan pada *object glass* dan disemprot alkohol 70% dan dikeringkan. Setelah kering selanjutnya dilakukan pewarnaan *methelyn blue* selama 5-10 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan sebelum diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali.

Pada awal penelitian, tikus yang sudah memasuki fase estrus akan diberikan perlakuan sesuai dengan kelompok penelitian. Bagi tikus yang belum memasuki masa estrus akan ditunggu dan dilakukan pemeriksaan apusan vagina ulang untuk menentukan fase estrus. Pada hari terakhir perlakuan, dilakukan pemeriksaan vagina ulang untuk menentukan fase proestrus. Hal ini dilakukan untuk menentukan tikus telah siap untuk dibedah.



4.7.2 Pembagian Kelompok Penelitian

Sebanyak 30 tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur *Wistar* yang memenuhi kriteria inklusi dibagi menjadi 2 kelompok kontrol (kontrol negatif dan kontrol positif) dan 3 kelompok perlakuan (P1, P2, P3) yang masing-masing kelompok terdiri dari 6 tikus. Pembagian tikus dalam kelompok dilakukan secara *random*.



Gambar 4.1 Pembagian Kelompok Penelitian

Keterangan:

- S : Sampel penelitian tikus putih (*Rattus norvegicus*)
 R : Randomisasi
 KN : Kelompok kontrol negatif (tanpa dipapar DMPA dan tidak diberi ekstrak bengkuang)
 KP : Kelompok kontrol positif (hanya dipapar DMPA dengan dosis 0,2 ml (2,7 mg) setiap 3 hari sebanyak 4 kali penyuntikan tanpa diberi ekstrak bengkuang)
 P1 : Kelompok perlakuan 1 (dipapar DMPA dengan dosis 0,2 ml (2,7 mg) setiap 3 hari sebanyak 4 kali penyuntikan dan diberi ekstrak bengkuang dosis 70 mg/200 g BB setiap hari selama 14 hari)
 P2 : Kelompok perlakuan 2 (dipapar DMPA dengan dosis 0,2 ml (2,7 mg) setiap 3 hari sebanyak 4 kali penyuntikan dan diberi ekstrak bengkuang dosis 140 mg/200 g BB setiap hari selama 14 hari)
 P3 : Kelompok perlakuan 3 (dipapar DMPA dengan dosis 0,2 ml (2,7 mg) setiap 3 hari sebanyak 4 kali penyuntikan dan diberi ekstrak bengkuang dosis 280 mg/200 g BB setiap hari selama 14 hari)
 R-KN : Hasil pemeriksaan ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium pada kelompok kontrol negatif
 R-KP : Hasil pemeriksaan ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium pada kelompok kontrol positif
 R-P1 : Hasil pemeriksaan ekspresi ER β dan jumlah epitel pada kelompok perlakuan 1
 R-P2 : Hasil pemeriksaan ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium pada kelompok perlakuan 2
 R-P3 : Hasil pemeriksaan ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium pada kelompok perlakuan 3



4.7.3 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba

Tikus putih diaklimatisasi selama 1 minggu dan dipelihara dalam laboratorium dan ditempatkan dalam kandang dengan suhu kamar (20-25°C) dengan ukuran 20x30x40 cm yang dialasi sekam padi dan dibersihkan serta diganti setiap 2 hari sekali, serta ditutup dengan kawat kasa. Masing-masing kandang terdiri dari 5 ekor tikus. Tikus diberi makan dengan porsi 40 g/hari/ekor secara *ad libitum*.

4.7.4 Prosedur Pembuatan Ekstrak Bengkoang

1. Pembuatan simplisia dan serbuk bengkoang

Proses dimulai dengan menyiapkan bengkoang yang telah dipanen kemudian dilakukan sortasi basah dengan cara memisahkan bagian tanaman yang baik, tidak rusak, berjamur atau kena penyakit. Memilih bagian yang dibutuhkan untuk pembuatan simplisia kemudian melakukan penimbangan hasil sortasi basah. Selanjutnya dilakukan pencucian hasil sortasi basah dengan air mengalir dan ditiriskan. Untuk mempercepat proses pengeringan dilakukan perajangan bengkoang dengan menggunakan pisau atau mesin perajang. Setelah dirajang, bengkoang dikeringkan menggunakan oven dengan suhu kurang dari 60 °C. Proses pengeringan dilakukan hingga kadar air maksimal 10% (cek dengan *moisture balance*).

Hasil pengeringan dilanjutkan dengan proses sortasi kering. Proses sortasi dilakukan dengan memilih simplisia yang memiliki kadar air maksimal 10%. Kemudian dilanjutkan dengan penggilingan simplisia menggunakan mesin penggiling kasar maupun halus. Serbuk simplisia ditimbang dan dikemas dengan menambahkan *silica gel*, dan diberi label, kemudian disimpan dalam gudang dengan prinsip *fifo* dan *fefo*.



2. Ekstraksi bengkoang

Ekstrak dibuat dari serbuk kering simplisia dengan menggunakan etanol 96% dengan cara maserasi. Proses penyaringan dilakukan dengan menggunakan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Kumpulkan semua maserat kemudian lakukan evaporasi dengan penguap tekanan rendah. Proses evaporasi dilakukan dengan memasukkan bahan ke dalam labu evaporasi 1 liter dan pasang dalam evaporator. Isi water bath dengan air samapi penuh, pasang semua rangkaian alat termasuk evaporator, pemanasan water bath dan diatur samapi 90°C kemudian disambungkan dengan aliran listrik. Tunggu hingga larutan terpisah dengan zat aktif ditandai dengan berehentinya tetesan pada labu penampungan 1,5-2 jam) hasil pengekstrakan dimasukkan kedalam botol kaca dan disimpan di dalam freezer.

4.7.5 Injeksi DMPA

DMPA dengan dosis 150 mg (3 mL) diencerkan dengan *aquabidest* sebanyak 7 ml dan diaduk agar homogen. Kemudian diambil 0,18 mL (2,7 mg) untuk diinjeksikan secara subkutan pada masing-masing kelompok perlakuan (KP, P1, P2, P3).

Injeksi DMPA dilakukan setiap 3 hari sebanyak 4 kali penyuntikan, dengan asumsi 13,8 hari tikus sama dengan 1 tahun manusia dan 26,7 hari manusia sama dengan 1 hari tikus (Sengupta, 2013). Pemberian dosis DMPA ini sesuai dengan pemberian DMPA pada wanita setiap 3 bulan selama 1 tahun.

4.7.6 Menentukan Kondisi Hipoestrogen

Untuk pemeriksaan kondisi reproduksi dapat dilakukan dengan pemeriksaan apusan vagina. Fungsi ovarium dapat diketahui dengan melihat diferensiasi sel epitel vagina yang secara tidak langsung mencerminkan perubahan fungsional. Pelepasan epitel dan penyusunan leukosit terjadi bila kadar



estrogen menurun dan bila pengaruh estrogen menghilang, epitel vagina kembali kekeadaan inaktif (Partodihardjo, 1992; Nursyah, 2012). Pemeriksaan apusan vagina dilakukan setelah pemberian suntikan DMPA dosis terakhir.

Pemeriksaan Apusan Vagina ini dilakukan dengan menggunakan *cotton bud* yang telah direndam NaCl fisiologis 0,9% sesaat sebelum digunakan. *Cotton bud* kemudian diulaskan pada dinding vagina dengan memutar 360°. Hasil ulasan dioleskan secara merata pada objek glass dan dilakukan fiksasi menggunakan metanol selama 5 menit. Setelah itu dilakukan pewarnaan dengan giemsa 10% selama 30 menit, kemudian dicuci dan dikering anginkan. Hasil pengamatan untuk kondisi hipoestrogen disesuaikan dengan kondisi normal epitel vagina. Dimana pada kondisi hipoestrogen epitel tidak berkembang baik, dan tidak bertambah besar, serta memiliki jumlah leukosit yang banyak. (Parhizkar, *et al.*, 2011).

4.7.7 Pemberian Ekstrak Bengkoang

Ekstrak bengkoang diberikan dalam tiga kategori dosis pada masing-masing kelompok perlakuan yaitu kelompok P1, P2 dan P3. Dosis ekstrak bengkoang yang digunakan yaitu dosis 70 mg/200 g BB, 140 mg/200 g BB, dan 280 mg/200 g BB setiap hari selama 14 hari (Tunikasari, 2015). Hal ini disesuaikan dengan siklus reproduksi manusia yang di konversikan dalam siklus reproduksi tikus. Pada wanita butuh waktu 4 sampai 6 bulan kadar DMPA menurun secara bertahap pada sirkulasi dan menghilang dalam kurun waktu 7 sampai 9 bulan (Strauss and Barbieri, 2013).

4.7.8 Prosedur Pengambilan Sampel

Pembedahan dilakukan setelah tikus diberikan ekstrak etanol bengkoang dosis terakhir pada fase proestrus dengan langkah berikut:

1. Menyiapkan peralatan bedah minor, pinset, gunting, kloroform, formalin 10%, dan botol tertutup untuk hewan coba.



2. Tikus diterminasi dengan cara dianastesi dengan memberikan ketamin 1% dengan dosis 0,1 ml dan ditambah *aquadest* 0,9 ml, diinjeksikan kemudian ditunggu hingga tikus tidak bergerak lagi.

3. Tikus yang sudah pingsan diletakkan di atas papan alas dengan perut menghadap ke atas. Tikus ditempatkan pada alas papan dengan menggunakan paku payung yang ditancapkan pada keempat telapak kaki tikus.

4. Dinding toraks dibuka dengan menggunakan pinset dan gunting secara hati-hati dengan sayatan pada garis tengah dilanjutkan ke samping kiri dan kanan sehingga akan terlihat *thorax* dan kemudian darah diambil secara intrakardial melalui ventrikel kanan jantung, darah yang diambil sebanyak kurang lebih 3 ml melalui spuit kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi tanpa diberi antikoagulan lalu ditutup dengan sumbat karet.

5. Dinding perut kemudian dibuka dengan menggunakan pinset dan gunting secara hati-hati. Sayatan dilakukan pada garis tengah dan dilanjutkan ke samping kiri dan kanan pada sisi atas dan bawah lalu membuka diafragma.

6. Uterus kemudian dibersihkan dari seluruh ligamen yang melekat. Selanjutnya uterus di bersihkan dari darah dengan menggunakan NaCl 0,9% tiriskan organ menggunakan kertas saring dengan satu kali tekanan

7. Kemudian masukkan dalam botol yang berisi fixative buffer formalin 10% dan direndam selama 12-24 jam

8. Organ siap untuk di proses menjadi preparat di laboratorium patologi anatomi FKUB



4.7.9 Proses pembuatan Slide Histopatologi dan pewarnaan *Haematoxylin Eosin*

1. Organ yang telah diambil diproses untuk dilakukan pembuatan histopatologi dengan pemotongan jaringan berupa makros. Jaringan uterus difiksasi dengan larutan buffer formalin 10%. Jaringan kemudian dipilih yang terbaik sesuai yang akan diteliti. Jaringan dipotong dengan ketebalan 2-3mm dan dimasukkan ke kaset yang telah di kode sesuai dengan gross peneliti. Jaringan dimasukkan kedalam formalin 10% kemudian dimasukkan kedalam tissue tex prosesor selama 80 menit.
2. Proses pengeblokan dan pemotongan jaringan dilakukan setelah 80 menit jaringan diblok dengan parafin sesuai kode jaringan. Kemudian jaringan dipotong dengan alat microtome dengan ketebalan 5 mikron.
3. Proses deparafinisasi dengan jaringan disayat dengan ketebalan 3-5 mikron secara longitudinal kemudian ambil 1 potongan jaringan dan dimasukkan kedalam watrebath (30-40 °C), tempelkan dengan hati-hati potongan jaringan tersebut pada objek glass, selanjutnya ditaruh dalam oven selama 30 menit dengan suhu 70-80°C, kemudian di masukkan kedalam tabung alcohol masing-masing 3 menit (hidrasi) dan yang terakhir kedalam air mengalir selama 15 menit.
4. Proses pewarnaan hematoksillin (HE) dengan cat utama harris hematoksillin 10-15 menit, cuci dengan air mengalir selama 15 menit, alcohol asam 1% 2-5 celup, ammonia cair 3-4 celup, cat pembanding eosin 1% selama 10-15 menit.
5. Dehidrasi dengan alcohol 70%, alcohol 80%, alcohol 96%, alcohol absolut masing-masing selama 3 menit.
6. Lakukan penjemihan (*clearing*) dengan larutan xylol 1 dan 2 masing-masing selama 60 menit.



7. Mounting dengan entelan dan deckglass dengan membiarkan slide kering pada suhu ruangan dan kemudian diamati

4.7.10 Penghitungan jumlah epitel endometrium

Penghitungan jumlah epitel endometrium dilakukan dengan menggunakan mikroskop dot slide olimpus XC 10 yang dilengkapi kamera optilab 12 megapixel dengan pembesaran 400kali. Teknik pengukuran dilakukan dengan membagi endometrium menjadi 5 lapang pandang pada 4 kuadran berbeda, kemudian dihitung jumlah epitel permukaan dan epitel kelenjar per lapang pandang. Penghitungan dilakukan secara manual oleh peneliti dengan teknik *blind sample*.

4.7.11 Pemeriksaan ekspresi ER β dengan Imunohistokimia

1. Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan yaitu mikropipet, tip, tube, tabung reaksi, mikroskop, aluminium foil, Slide jaringan endometrium yang telah di deparafinisasi, antibody primer ER β untuk tikus, dan kit IHC
2. Siapkan buffer sitrat dengan aquades sampai batas 50ml. masukan chamber yang telah berisi larutan buffer sitrat dan aquades dalam waterbat selama 20 menit dengan pH buffer sitrat 6. kemudian panaskan dalam water bath suhu 95 $^{\circ}$ C selama 20 Menit. Keluarkan slide dari waterbath tunggu sampai suhu ruang \pm 20 Menit. Cuci slide dengan PBS (3X3 Menit)
3. Hari pertama, Blocking endogen peroksidase dengan ditetaskan 3% H $_2$ O $_2$ (dalam methanol) inkubasi 20 menit pada suhu ruang dan dicuci PBS 3X5 Menit. Blocking unspezifis protein dengan meneteskan blocking buffer (background sniper) inkubasi 60 menit pada suhu ruang lalu cuci dengan PBS 3X5 Menit. Inkubasi antibody primer dengan meneteskan antibody primer yang dilarutkan dalam blocking buffer, lakukan inkubasi pada 4 $^{\circ}$ C semalam.



Keesokan harinya keluarkan dan tunggu sampai suhu ruang, kemudian cuci dengan PBS 3X5 Menit

4. Hari kedua, Inkubasi antibody sekunder dengan meneteskan (biotin conjugate), inkubasi selama 60 menit pada suhu ruang dan cuci dengan PBS 3X5 Menit. Inkubasi SA-HRP (streptavidin Horseradish peroxidase) dengan meneteskan SA-HRP, diinkubasi 40 menit pada suhu ruang lalu mencuci dengan PBS 3x5 Menit dan bilas dengan aquades. Aplikasi chromogen DAB (Diaminobenzidine) dengan meneteskan DAB (DAB chromogen :DAB buffer = 1:40) inkubasi 1-10 menit pada suhu ruang lalu cuci dengan aquades 3x5 menit. Counterstain dengan mayer's hematoxilen dengan ditetaskan mayer's hematoxilen (mayer's hematoxilen :aquades = 1:3), inkubasi 1-10 menit pada suhu ruang dan bilas dengan aquades. Mounting dengan entellan dikering anginkan. Amati di bawah mikroskop dengan ketentuan pewarnaan pada antibody positif berwarna coklat dan negatif berwarna ungu pada inti sel.

4.7.12 Penghitungan ekspresi ER β

Pemeriksaan ekspresi dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya dot slide olimpus XC 10 yang dilengkapi kamera optilab 12 megapixel dan software pengolahan gambar optilab viewer. Data setiap sampel diamati dengan menghitung persentasi sel positif pada setiap lapang pandang. Setiap sampel diamati dengan menggunakan persentase jumlah sel yang terwarnai pada setiap sampel yang dibagi menjadi 5 lapang pandang pada 4 kuadran berbeda. Dalam penghitungan ini dikatakan sel positif apabila dapat dilihat dari perubahan warna kecoklatan pada sel yang mengekspresikan ER β pada pemeriksaan imunohistokimia dengan menggunakan mikroskop olimpus pembesaran 400 kali pada 5 lapang pandang. Penghitungan sel yang tereksprei dilakukan sendiri oleh peneliti dengan teknik *blind sample*.



4.7.13 Prosedur Pembuangan Hewan Coba

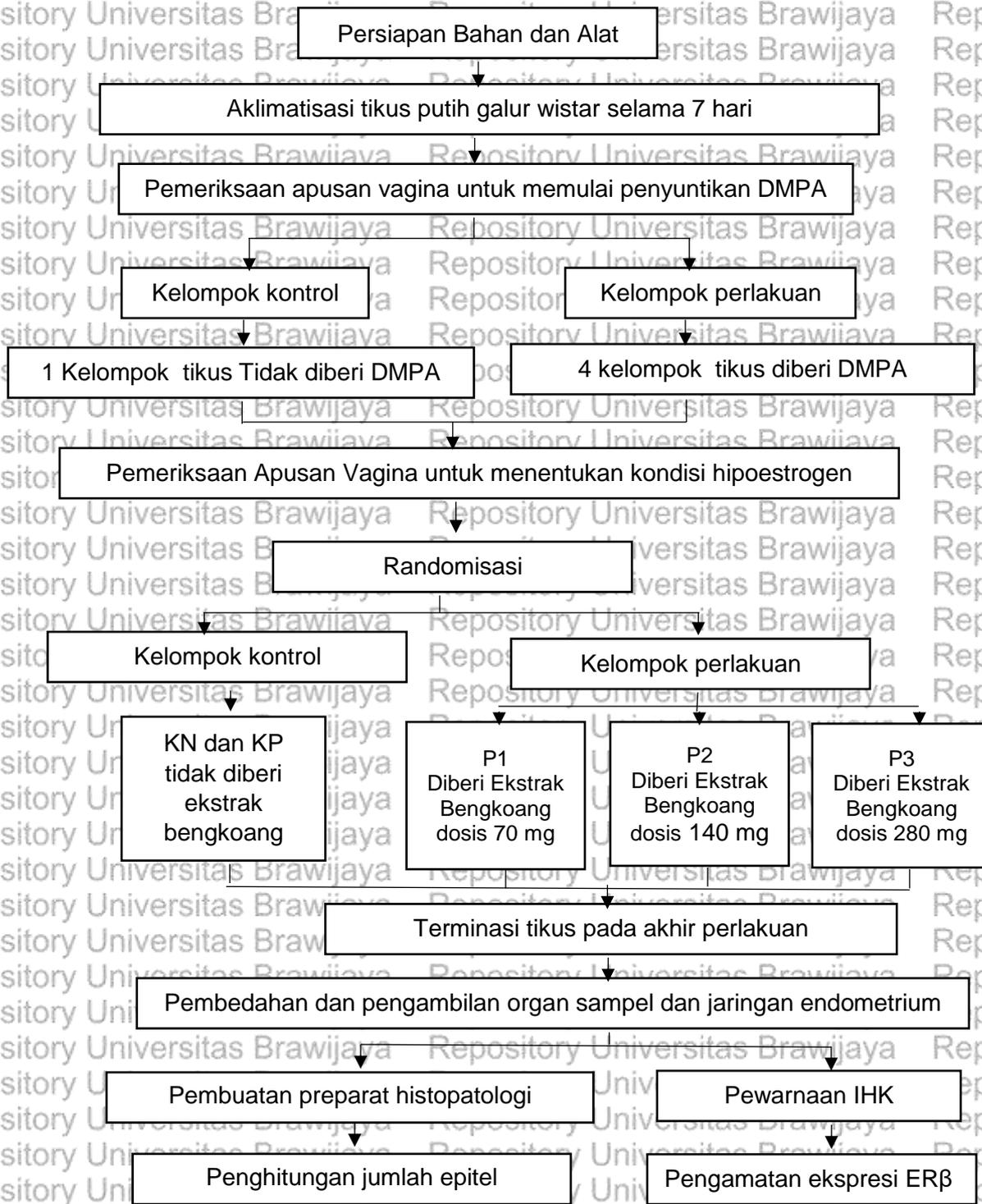
Setelah dilakukan pengambilan sampel darah dan jaringan, tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dikorbankan kemudian ditanam di tanah untuk menghindari pencemaran lingkungan (Bancroft and Gamble, 2008).

4.8 Teknik Analisis Data

Analisis data dimulai dengan melakukan uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk*. Pengujian ini digunakan untuk melihat normalitas data sebagai prasyarat menggunakan uji parametrik atau non-parametrik. Kriteria untuk uji normalitas jika $p\text{ value} > 0,05$ maka data terdistribusi normal (Santoso, 2005).

Selanjutnya dilakukan uji beda menggunakan *One Way ANOVA* untuk mengetahui pengaruh variabel dan membandingkan rerata variabel terukur antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Jika pada uji *One Way Anova* menghasilkan kesimpulan H_0 ditolak atau kesimpulan ada perbedaan bermakna (signifikan), maka analisis dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda dengan uji *Duncan*. Tujuan dilakukan uji *Duncan* adalah untuk menemukan pada dosis berapa yang mempunyai pengaruh yang paling bermakna (Steel and Torrie, 1995). Uji hipotesis untuk mengetahui *cause-effect relationship* antara variabel independen terhadap variabel dependent yaitu pengaruh dosis ekstrak etanol bengkoang terhadap ekspresi estrogen reseptor β dan jumlah epitel endometrium dilakukan dengan menggunakan uji korelasi spearman. Semua uji dilakukan dengan menggunakan bantuan piranti lunak (*software*) *SPSS for Windows 23*.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur penelitian

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai Mei 2019 di Institut Biosains Universitas Brawijaya dan laboratorium Patologi Anatomi FKUB. Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian *true experimental* dengan teknik *in vivo* tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol bengkoang terhadap ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium pada tikus Wistar model hipoestrogen dengan DMPA.

5.1 Gambaran Umum Tikus Percobaan dan Ekstrak Bengkoang

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih galur wistar yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yaitu kelompok kontrol Negatif (KN) yang tidak diberikan Ekstrak bengkoang dan DMPA, kontrol positif (KP) yang diberikan DMPA tanpa ekstrak bengkoang, kelompok perlakuan 1 (P1) dengan DMPA dan ekstrak etanol bengkoang dosis 70mg/200g BB, kelompok perlakuan 2 (P2) dengan DMPA dan ekstrak etanol bengkoang dosis 140mg/200gBB, dan kelompok perlakuan 3 (P3) dengan DMPA dan ekstrak etanol bengkoang dosis 280mg/200gBB.

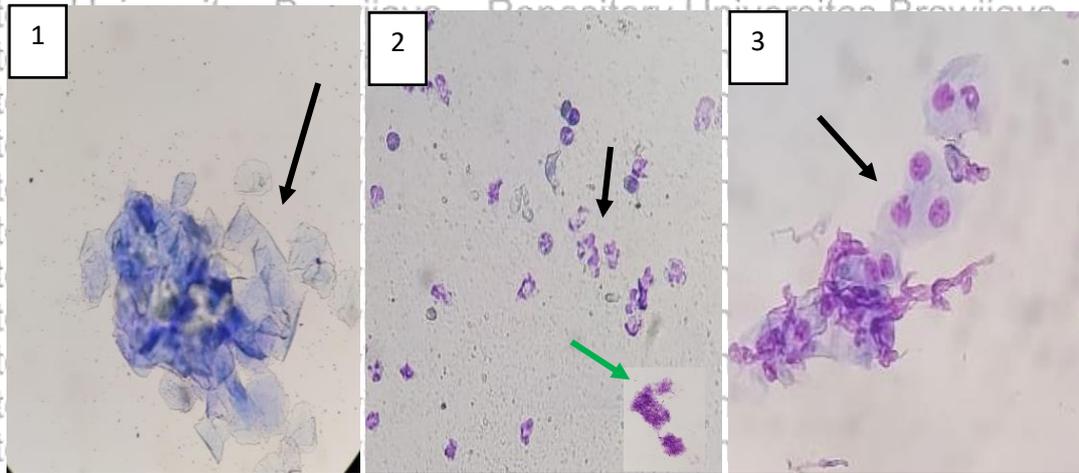
Ekstrak bengkoang yang digunakan adalah ekstrak etanol bengkoang lokal yang didapatkan dari kabupaten Kediri Jawa Timur. Bengkoang yang digunakan adalah bengkoang muda yang baru dipanen sebanyak 6kg dengan mengambil kulit dan biji bengkoang. Proses pengestrakan bengkoang dilakukan di materia medika batu yang dimulai dengan proses pengeringan, pembuatan simplisia dan pembuatan ekstrak dengan menggunakan ethanol. Dari proses simplisia, 6kg berat utuh bengkoang didapatkan 300gr simplisia kering yang diproses menjadi 34ml ekstrak etanol bengkoang dan 34,3gr ekstrak bengkoang. Dari hasil determinasi tanaman bengkoang di materia medika batu didapatkan

bengkoang mengandung senyawa saponin dan flavonoid, pada bijinya mengandung minyak atsiri, paku saponin A dan B, pakirhizin, rotenon, minyak lemak dan hars.

5.2 Hasil Pengamatan

5.2.1 Gambaran Apusan Vagina tikus Wistar

Pemeriksaan apusan vagina pada tikus dilakukan sebanyak tiga kali yaitu sebelum pemberian DMPA, setelah pemberian DMPA dan sebelum pembedahan tikus. Hasil pemeriksaan apusan vagina pada tikus dapat dilihat pada gambar 5.1



Gambar 5.1 Hasil pemeriksaan Apusan Vagina (pembesaran 400kali)

Keterangan (1) Gambaran apusan vagina pada tikus sebelum dipapar DMPA pada fase estrus menggunakan *methylene blue* menunjukkan adanya kelompok sel epitel skuamosa yang *cornified*, tidak ada nukleus yang terlihat, sitoplasma bersifat granular, dan bentuknya tidak beraturan (panah hitam). (2) Gambaran apusan vagina pada tikus setelah dipapar DMPA menggunakan *gentian violet* menunjukkan adanya leukosit dan tidak adanya sel kornifikasi (panah hitam). Selain sel leukosit didapatkan sel yang mengalami nekrotik pada hasil apusan vagina (panah hijau) (3) Gambaran apusan vagina pada fase proestrus sebelum dilakukan pembedahan menggunakan *gentian violet* menunjukkan adanya sel epitel berinti yang menandakan fase proestrus (panah hitam)

Pemeriksaan apusan vagina yang pertama (Gambar 5.1(1)) dilakukan untuk menentukan fase estrus sebelum dimulainya pemberian paparan DMPA.

Fase estrus merupakan fase dimana estrogen meningkat dan telah terjadi ovulasi.

Sehingga dianggap waktu yang ideal untuk pemberian DMPA jika disamakan dengan fase pemberian DMPA pada manusia. Pada Gambar 5.1(1) tampak sel epitel dengan pewarnaan *methylene blue* dimana sel epitel tersebut memiliki



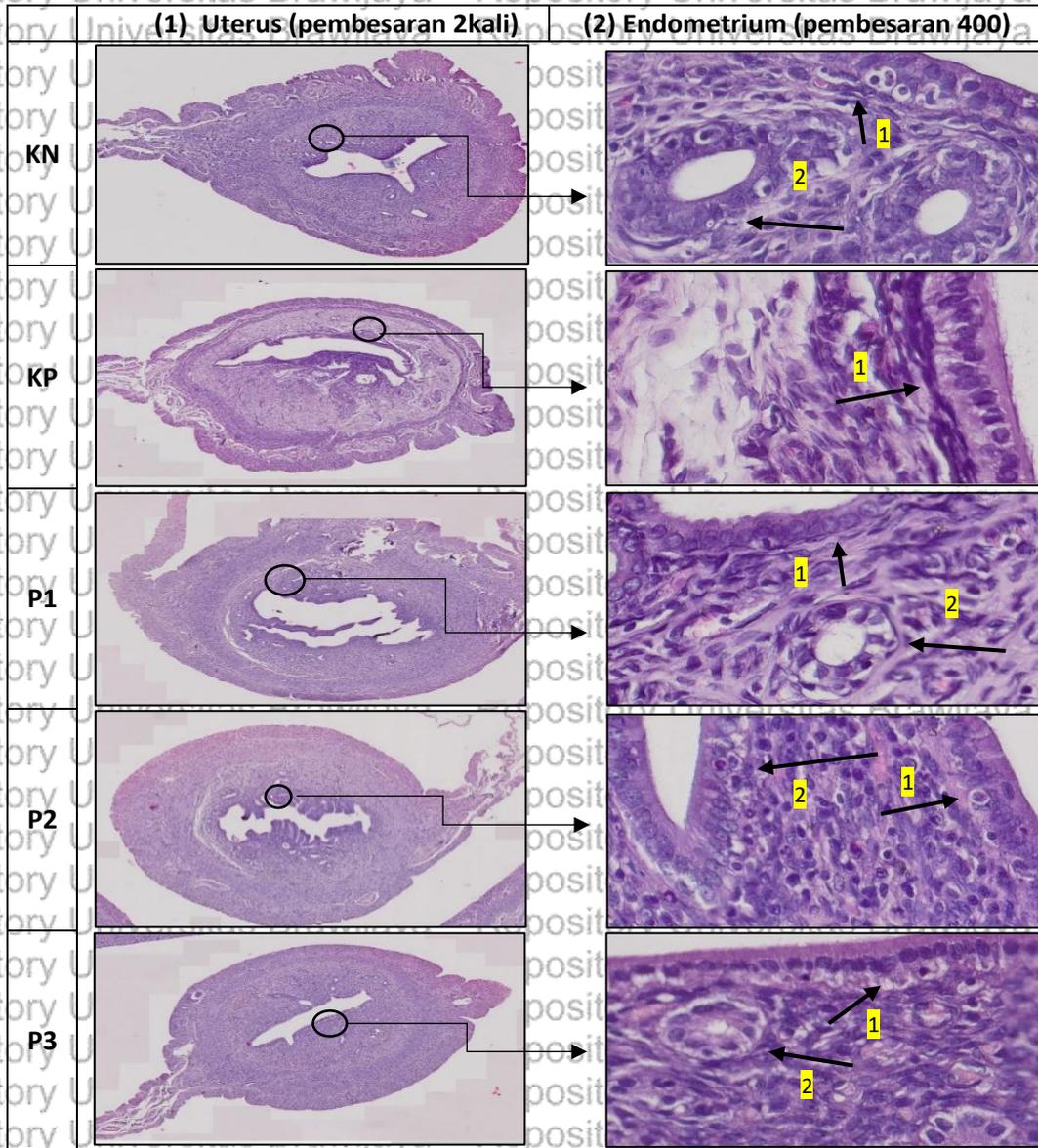
bentuk yang tidak beraturan, tidak memiliki inti sel, sitoplasma luas dan berbentuk pipih, hal ini sesuai dengan ciri dari fase estrus.

Pemeriksaan apusan vagina kedua dilakukan setelah pemberian DMPA dengan dosis 2,7 mg(0,18 mL) untuk mengetahui kondisi hipoestrogen pada tikus yang ditandai dengan ditemukannya leukosit dan tidak adanya sel kornifikasi, kondisi ini mirip dengan fase diestrus. Pada gambar 5.1(2) tampak sel leukosit dengan ukuran kecil dan bentuk tidak beraturan serta memiliki inti sel bulat. Leukosit tersebut terlihat menyebar dengan penyebaran yang tidak beraturan dan tidak ditemukan sel epitel seperti pada Gambar 5.1(1) dan Gambar 5.1(3).

Pemeriksaan apusan vagina ketiga dilakukan untuk menentukan fase proestrus sebelum dilakukannya pembedahan. Fase proestrus merupakan fase dimana terjadi proliferasi pada sel endometrium sehingga di anggap fase yang ideal untuk memeriksa kondisi endometrium dan estrogen reseptor. Pada gambar 5.1(3) tampak sel epitel berbentuk bulat dengan inti sel berbentuk oval yang di kelilingi sitoplasma. Sel leukosit tidak ditemukan pada fase ini sama seperti pada fase estrus yang tidak memiliki leukosit.

5.2.2 Gambaran Histopatologi Pada Epitel Endometrium

Hasil pewarnaan endometrium dengan *Haematoxillin eosin* dilihat dengan menggunakan mikroskop Olympus dengan pembesaran 400 kali pada 5 lapang pandang pada kelompok KN (tanpa DMPA dan ekstrak bengkoang), KP (DMPA tanpa ekstrak bengkoang), P1 (DMPA dan ekstrak bengkoang dosis 70mg/200grBB), P2 (DMPA dan ekstrak bengkoang dosis 140 mg/200grBB), dan P3 (DMPA dan ekstrak bengkoang dosis 280 mg/200grBB) dapat dilihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Hasil pewarnaan Epitel Endometrium (Pembesaran 400kali)

Keterangan : Epitel endometrium ditandai dengan bentuk sel bulat dan berinti bulat seperti oval yang ditunjukkan oleh panah hitam. Pada endometrium terdapat epitel kelenjar (2) dan epitel permukaan (1). P1 (DMPA dengan ekstrak bengkoang 70mg/20gBB), P2 (DMPA dengan ekstrak bengkoang 140mg/200gBB), P3 (DMPA dengan ekstrak bengkoang 280mg/200gBB), KP (DMPA tanpa ekstrak bengkoang), KN (tanpa pemberian DMPA dan ekstrak bengkoang).

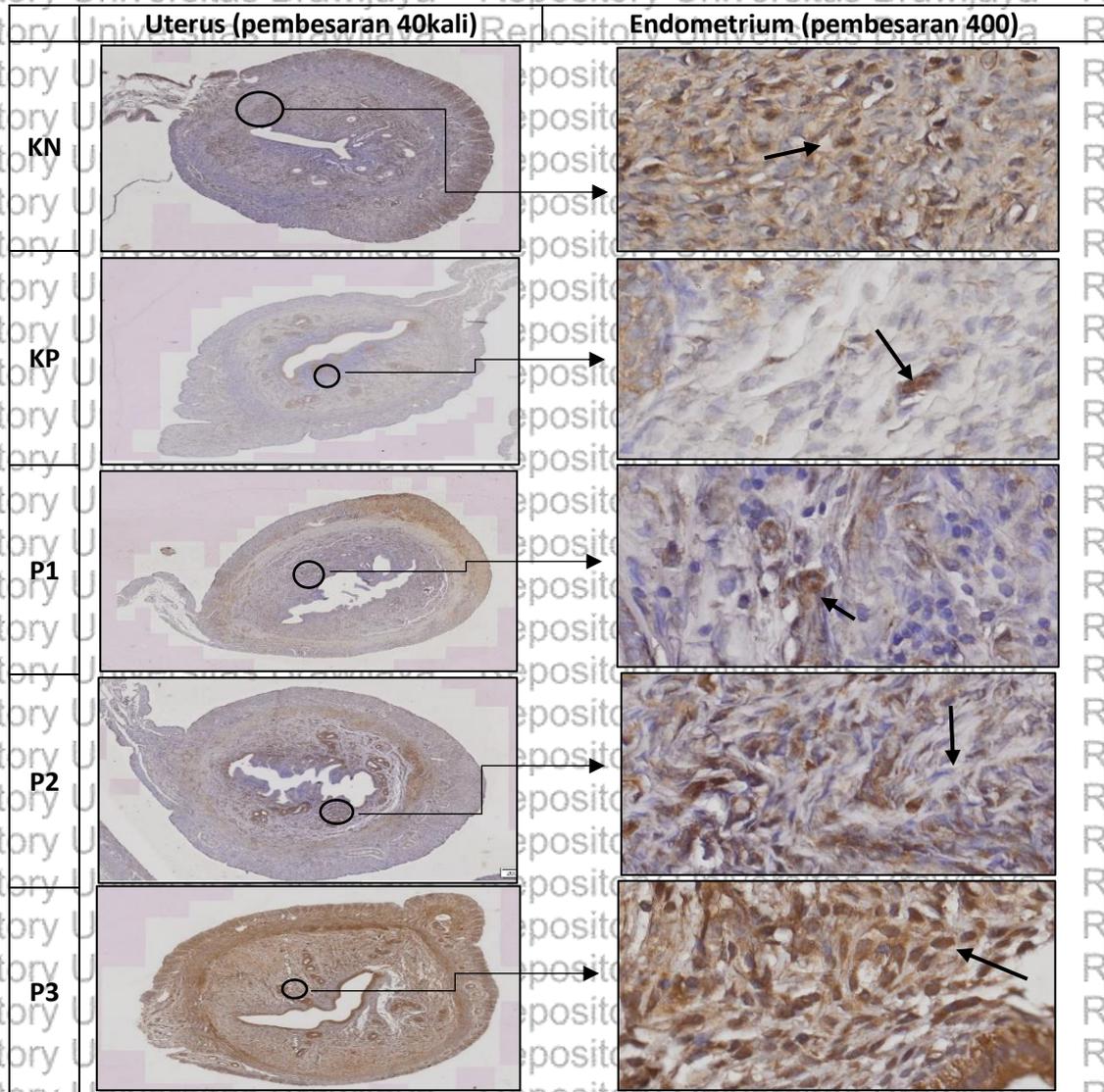
Pada Gambar 5.2(1) dapat dilihat tampak perbedaan pada lapisan endometrium antara masing-masing kelompok perlakuan dimana lapisan endometrium pada kelompok KP memiliki lapisan yang lebih tipis diantara kelompok lainnya. Pada kelompok KN, KP, P1, P2, dan P3 (Gambar 5.2(2)) tampak jumlah epitel kelenjar dan epitel permukaan yang bervariasi antara



masing-masing kelompok. Pada kelompok KN tampak epitel permukaan yang tersusun memanjang dan epitel kelenjar berbentuk bulat dan rapat antara masing-masing epitel. Pada kelompok KP dapat dilihat epitel permukaan yang memanjang namun lebih renggang dibandingkan kelompok KN, sementara itu tidak tampak epitel kelenjar berbentuk bulat namun yang terlihat adalah gambaran sel dengan bentuk oval yang tersusun acak (Gambar 5.2(2)). Pada kelompok P1 (Gambar 5.2(2)) dapat dilihat gambaran epitel permukaan yang tersusun memanjang dengan epitel kelenjar berbentuk bulat dengan sel epitel lebih renggang dibandingkan kelompok KN. Pada kelompok P2 dan P3 (Gambar 5.2(2)) tampak epitel permukaan dan epitel kelenjar yang tersusun rapi dan rapat serta sel epitel lebih padat, dengan epitel kelenjar pada P2 berbentuk bulat, besar dan memanjang sementara P3 memiliki epitel kelenjar berbentuk bulat dan lebih rapat antara masing-masing epitel kelenjar. Pada kelompok P2 (gambar 5.2(1)) tampak epitel permukaan dengan lekukan yang lebih banyak dibandingkan kelompok lainnya.

5.2.3 Gambaran Ekspresi ER β dengan Pemeriksaan Imunohistokimia

Hasil pewarnaan ER β pada endometrium dengan menggunakan Imunohistokimia yang di amati dengan menggunakan mikroskop Olympus pembesaran 400 kali pada 5 lapang pandang. Gambaran ekspresi ER β pada kelompok KN (tanpa DMPA dan ekstrak bengkoang), KP (DMPA tanpa ekstrak bengkoang), P1 (DMPA dan ekstrak bengkoang dosis 70mg/200grBB), P2 (DMPA dan ekstrak bengkoang dosis 140 mg/200grBB), dan P3 (DMPA dan ekstrak bengkoang dosis 280 mg/200grBB) dapat dilihat pada gambar 5.3.



Gambar 5.3 Hasil IHK ER β pada endometrium (pembesaran 400kali)

Keterangan :Pemeriksaan Imunohistokimia pada endometrium tikus untuk melihat ekspresi ER β ditandai dengan sel tampak berwarna coklat pada inti sel dan membrane sel pada endometrium tikus. Panah berwarna hitam menunjukkan sel yang mengespresikan ER β pada kelompok KN tanpa pemberian DMPA dan ekstrak bengkoang), KP (DMPA tanpa ekstrak bengkoang), P1 (DMPA dengan ekstrak bengkoang 70mg/20gBB), P2 (DMPA dengan ekstrak bengkoang 140mg/200gBB), dan P3 DMPA dengan ekstrak bengkoang 280mg/200gBB)

Pada Gambar 5.3 tampak perbedaan ekspresi ER β antara kelompok KN, KP, P1, P2, dan P3. Ekspresi ER β pada masing-masing kelompok tampak bervariasi dengan warna coklat pada kelompok P3 tampak lebih dominan dibanding kelompok lainnya. Sel yang tereksresi pada masing-masing gambar terlihat berbeda dengan perbandingan warna coklat dimana warna coklat yang paling

banyak adalah kelompok P3 dan yang paling sedikit adalah kelompok KP. Warna coklat dapat dilihat pada epitel dan stroma endometrium (Gambar 5.3(1)) dengan warna coklat yang lebih dominan pada stroma endometrium (Gambar 5.3(2)) pada kelompok P3.

2.5 Analisis Statistik

5.3.1 Hasil Uji Normalitas

Pada penelitian ini variabel ekspresi ER β dan jumlah sel epitel berskala data rasio, sehingga untuk membuktikan hipotesis penelitian dipilih pendekatan analisis statistik parametrik. Sebelum data dianalisis lebih lanjut untuk membuktikan hipotesis, maka dilakukan analisis prasyarat parametrik terlebih dahulu, yaitu data berdistribusi normal jika tidak maka digunakan analisis statistik non parametrik.

Dalam penelitian uji normalitas data dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Adapun kriteria keputusan, yaitu bila *p-value* lebih besar dari taraf signifikansi $\alpha = 0.05$ maka data berdistribusi normal dan sebaliknya bila *p-value* lebih kecil dari taraf signifikansi $\alpha = 0.05$ maka data tidak berdistribusi normal. Pada analisis uji *Shapiro-Wilk* diperoleh tampak pada tabel di bawah ini (Lampiran 6).

Tabel 5.1 Hasil uji normalitas data

Kelompok pengamatan	<i>p-value</i>		distribusi
	Ekspresi ER β	jml sel epitel	
Kontrol (-)	0.881	0.984	normal
kontrol (+) (DMPA)	0.161	0.377	normal
P1 (DMPA + Eks. Bengkg 70mg/200g BB)	0.846	0.248	normal
P2 (DMPA + Eks. Bengkg 140mg/200g BB)	0.670	0.881	normal
P3 (DMPA + Eks. Bengkg 280mg/200g BB)	0.112	0.884	normal

Keterangan: Jika *p-value* < 0.05 berarti data tidak berdistribusi normal dan jika *p-value* > 0.05 berarti data berdistribusi normal

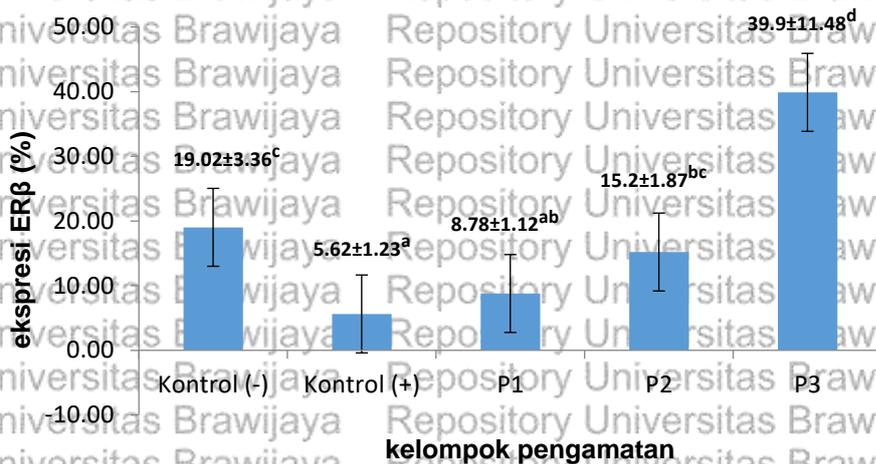
Pada Tabel 5.1 menunjukkan bahwa data ekspresi ER β dan jumlah sel epitel untuk masing-masing kelompok pengamatan telah menunjukkan nilai *p-value* yang semuanya lebih besar dari 0.05. Jadi semua data telah terbukti berdistribusi normal sehingga terpenuhi uji prasyarat parametrik. Selanjutnya data dianalisis dengan uji statistika parametrik untuk membuktikan hipotesis penelitian.



5.3.2 Hasil uji perbandingan antar kelompok pengamatan

5.3.2.1 Hasil Uji One Way Anova pada Ekspresi ER β

Perbandingan rerata ekspresi ER β pada kelima kelompok sampel pengamatan dengan menggunakan uji *One Way Anova* diperoleh ada perbedaan yang bermakna (Lampiran 6). Hal ini ditunjukkan dengan nilai $p\text{-value} = 0,000 < \alpha$. Selanjutnya pada uji perbandingan berganda (*Multiple Comparisons*) dengan uji Duncan rerata ekspresi ER β pada kelima kelompok sampel tersebut disajikan secara lengkap tampak pada gambar 5.4



Gambar 5.4 Histogram rerata ekspresi ER β

Keterangan: Pada rerata \pm SD menunjukkan hasil uji Duncan jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna ($p\text{-value} < 0,05$) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna ($p\text{-value} > 0,05$).

Pada Gambar 5.4 menunjukkan histogram rerata ekspresi ER β pada tikus wistar yang tidak diberi apapun (kontrol negatif), tikus wistar diberi DMPA (kontrol positif), dan 3 kelompok tikus wistar yang diberi DMPA dan pemberian ekstrak Bengkoang dengan dosis 70 mg/200gBB, dosis 140 mg/200gBB, dan dosis 280 mg/200gBB. Tampak pada gambar tersebut batang rerata ekspresi ER β tertinggi pada kelompok P3 dan yang terendah pada batang rerata ekspresi ER β pada kelompok kontrol positif. Hal ini berarti bahwa pemberian DMPA pada tikus betina mengakibatkan ekspresi ER β meningkat. Sedangkan rerata ekspresi ER β tampak meningkat pada kelompok P1, P2, dan P3 bila dibandingkan dengan kelompok



kontrol positif. Peningkatan ekspresi ER β seiring dengan peningkatan dosis ekstrak Bengkoang yang diberikan. Jadi pemberian ekstrak Bengkoang ketiga dosis tersebut mampu meningkatkan ekspresi ER β pada tikus wistar yang diberi DMPA.

Sedangkan dosis ekstrak Bengkoang yang dianggap paling cepat mampu meningkatkan ekspresi ER β adalah dosis 280 mg/200gBB, karena rerata ekspresi ER β kelompok P3 (39.9 ± 11.48) nilainya paling tinggi dibandingkan P1 maupun P2.

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata ekspresi ER β antara kelompok kontrol negatif (tikus betina sehat) (19.02 ± 3.36^c %) dengan kelompok kontrol positif (tikus betina yang diberi DMPA) (5.62 ± 1.23^a %). Tampak rerata ekspresi ER β pada kelompok kontrol negatif lebih besar dari pada kelompok kontrol positif. Hal ini berarti bahwa perlakuan pemberian DMPA pada tikus betina akan mengakibatkan penurunan ekspresi ER β . Jadi sub hipotesis pertama terbukti, yaitu ada pengaruh pemberian DMPA terhadap penurunan ekspresi ER β pada tikus yang dipapar DMPA.

Ada pula perbedaan yang bermakna rerata ekspresi ER β antara kelompok kontrol negatif (tikus betina sehat) (19.02 ± 3.36^c %) dengan kelompok P1 atau kelompok perlakuan pemberian DMPA + ekstrak Bengkoang dosis 70 mg/200gBB (8.78 ± 1.12^{ab} %); dan juga dengan P3 atau kelompok perlakuan pemberian DMPA + ekstrak Bengkoang dosis 280 mg/200gBB (39.9 ± 11.48^d %). Tetapi tidak berbeda bermakna rerata ekspresi ER β antara kelompok kontrol negatif (19.02 ± 3.36^c %) dengan kelompok P2 atau kelompok perlakuan pemberian DMPA + ekstrak Bengkoang dosis 140 mg/200gBB (15.2 ± 1.87^{bc} %).

Nilai rerata ekspresi ER β kelompok kontrol positif, kelompok P1, dan kelompok P2 tampak lebih kecil bila dibandingkan dengan rerata ekspresi ER β pada kelompok kontrol negatif. Sedangkan nilai rerata ekspresi ER β kelompok P3 tampak lebih besar bila dibandingkan dengan rerata ekspresi ER β pada kelompok kontrol negatif. Hal ini berarti bahwa tikus betina dengan perlakuan pemberian

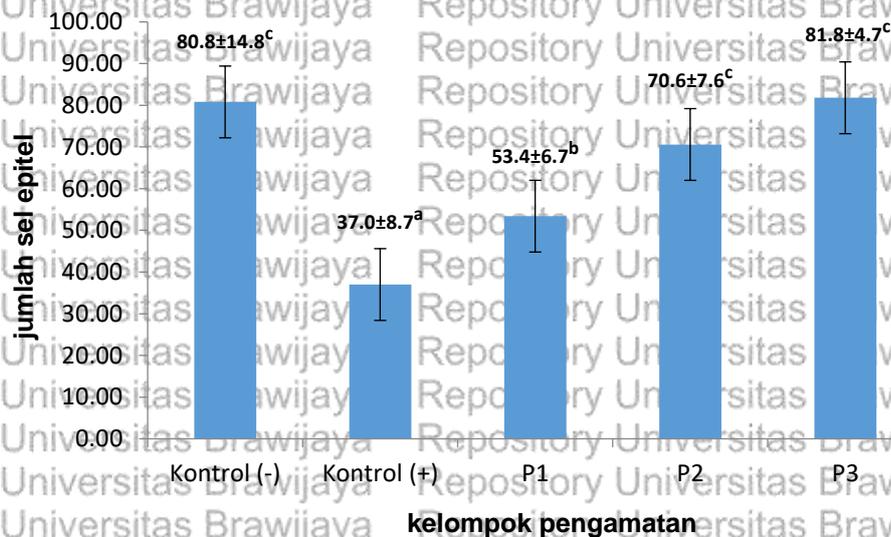


DMPA + ekstrak Bengkoang 280 mg/200gBB akan meningkatkan ekspresi ER β bila dibandingkan dengan tikus betina yang sehat, sedangkan yang lainnya tidak. Dengan kata lain pemberian ekstrak Bengkoang 280 mg/200gBB akan berakibat terhadap peningkatan ekspresi ER β pada tikus wistar yang diberi DMPA sebelumnya. Jadi sub hipotesis kedua terbukti, yaitu ada pengaruh pemberian ekstrak Bengkoang dosis 70 mg/200gBB, 140 mg/200gBB, 280mg/200gBB terhadap peningkatan ekspresi ER β pada tikus yang dipapar DMPA.

5.3.2.1 Hasil Uji *One Way Anova* pada Jumlah Epitel Endometrium

Berdasarkan hasil uji *Anova One Way* pada data jumlah sel epitel diperoleh ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah sel epitel kelima kelompok sampel pengamatan, hal ini ditunjukkan dengan nilai $p\text{-value} = 0.000 < \alpha$ (Lampiran 6).

Selanjutnya pada uji perbandingan berganda (*Multiple Comparisons*) dengan uji Duncan rerata jumlah sel epitel pada kelima kelompok sampel tersebut disajikan secara lengkap tampak pada gambar 5.5.



Gambar 5.5 Histogram rerata jumlah sel epitel

Keterangan: Pada rerata \pm sd menunjukkan hasil uji Duncan jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna ($p\text{-value} < 0.05$) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan yang bermakna ($p\text{-value} > 0.05$).



Pada Gambar 5.5 memperlihatkan histogram rerata jumlah sel epitel pada tikus wistar yang tidak diberi apapun (kontrol negatif), tikus wistar diberi DMPA (kontrol positif), dan 3 kelompok tikus wistar yang diberi DMPA dan pemberian ekstrak Bengkoang dengan dosis Bengkoang 70 mg/200gBB, dosis 140 mg/200gBB, dan dosis 280 mg/200gBB. Tampak pada gambar tersebut batang rerata jumlah sel epitel tertinggi pada kelompok P3 dan yang terendah pada batang rerata jumlah sel epitel pada kelompok kontrol positif. Hal ini berarti bahwa pemberian DMPA pada tikus betina mengakibatkan jumlah sel epitel menurun.

Sedangkan rerata jumlah sel epitel tampak meningkat pada kelompok P1, P2, dan P3 bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Peningkatan jumlah sel epitel seiring dengan peningkatan dosis ekstrak Bengkoang yang diberikan. Jadi pemberian ekstrak Bengkoang ketiga dosis tersebut mampu meningkatkan jumlah sel epitel pada tikus wistar yang diberi DMPA. Sedangkan dosis ekstrak Bengkoang yang dianggap paling cepat mampu meningkatkan jumlah sel epitel adalah dosis 280 mg/200g BB, karena rerata jumlah sel epitel kelompok P3 (81.8 ± 4.7^c) nilainya paling besar bila dibandingkan kelompok P1 maupun P2.

Hasil uji Duncan pada gambar 5.5 menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah sel epitel antara kelompok kontrol negatif (tikus betina sehat) (80.8 ± 14.8^c) dengan kelompok kontrol positif (tikus betina yang diberi DMPA) (37.0 ± 8.7^a). Tampak rerata jumlah sel epitel pada kelompok kontrol negatif lebih besar dari pada kelompok kontrol positif. Hal ini berarti bahwa perlakuan pemberian DMPA pada tikus betina akan mengakibatkan penurunan jumlah sel epitel. Jadi sub hipotesis pertama terbukti, yaitu ada pengaruh pemberian DMPA terhadap penurunan jumlah sel epitel pada tikus yang dipapar DMPA.

Tampak Gambar 5.5 berdasarkan hasil uji Duncan menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah sel epitel antara kelompok kontrol positif (tikus betina yang diberi DMPA) (37.0 ± 8.7^a) dengan kelompok P1 (kelompok



perlakuan pemberian DMPA + ekstrak Bengkoang dosis 70 mg/200g BB) (53.4 ± 6.7^b), dengan P2 (kelompok perlakuan pemberian DMPA + ekstrak Bengkoang dosis 140 mg/200gBB) (70.6 ± 7.6^c), dan juga berbeda bermakna dengan P3 (kelompok perlakuan pemberian DMPA + ekstrak Bengkoang dosis 280 mg/200gBB) (81.8 ± 4.7^c). Tampak nilai rerata jumlah sel epitel kelompok kontrol positif lebih kecil bila dibandingkan dengan rerata jumlah sel epitel pada kelompok P1, P2, maupun P3. Hal ini berarti bahwa tikus betina dengan pemberian DMPA + ekstrak Bengkoang dosis 70 mg/200gBB, dosis 140 mg/200gBB, dan dosis 280 mg/200gBB akan meningkatkan jumlah sel epitel bila dibandingkan dengan tikus betina yang diberi DMPA saja. Jadi sub hipotesis ketiga terbukti, yaitu ada pengaruh pemberian ekstrak Bengkoang dosis 70 mg/200gBB, 140 mg/200gBB, 280 mg/200gBB terhadap jumlah epitel endometrium pada tikus yang dipapar DMPA.

Hasil pada Gambar 5.5 menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata jumlah sel epitel antara kelompok P1 (kelompok perlakuan pemberian DMPA + ekstrak Bengkoang dosis 70 mg/200gBB) (53.4 ± 6.7^b) dengan kelompok P2 (kelompok perlakuan pemberian DMPA + ekstrak Bengkoang dosis 140 mg/200gBB) (70.6 ± 7.6^c) dan juga berbeda dengan P3 (kelompok perlakuan pemberian DMPA + ekstrak Bengkoang dosis 280 mg/200gBB) (81.8 ± 4.7^c). Hal ini berarti bahwa tikus betina dengan pemberian DMPA + ekstrak Bengkoang dosis 140 mg/200gBB dan dosis 280 mg/200gkgBB akan meningkatkan jumlah sel epitel bila dibandingkan dengan tikus betina yang diberi DMPA+ ekstrak Bengkoang dosis 70 mg/200gBB. Jadi pemberian ekstrak Bengkoang dosis 140 mg/200gBB dan dosis 280 mg/200gkgBB dapat meningkatkan jumlah sel epitel pada tikus wistar yang diberi DMPA. Tetapi rerata jumlah sel epitel antara P2 dan P3 tidak berbeda bermakna. Hal ini berarti pemberian ekstrak Bengkoang dosis 140



mg/200gBB dan dosis 280 mg/200gkgBB memiliki kemampuan yang sama dalam meningkatkan jumlah sel epitel pada tikus wistar yang diberi DMPA.

5.3.3 Hasil Uji Korelasi

Untuk mengetahui *cause effect relationship* antara variable independen terhadap variable dependent yaitu pengaruh dosis ekstrak etanol bengkoang terhadap ekspresi estrogen reseptor β dan jumlah epitel endometrium dilakukan dengan menggunakan uji korelasi Spearman. Hasil analisis uji korelasi tampak pada tabel 5.2 (lampiran 6)

Tabel 5.2 Hasil uji korelasi

Variabel yang dihubungkan	Koefisien korelasi (r)	Arti	p-value
Dosis terhadap ekspresi ER β	0,945*	Korelasi sangat kuat	0.000
Dosis terhadap jumlah sel epitel	0.890*	Korelasi sangat kuat	0.000
ER β terhadap jumlah sel epitel	0.827*	Korelasi sangat kuat	0.000

Keterangan : Tanda bintang (*) artinya korelasi bernilai signifikan sebesar 0,01. Nilai p-value < 0,05 menunjukkan ada hubungan yang signifikan antara kedua variable

Dari tabel 5.2 menunjukkan tingkat korelasi antara variabel dosis terhadap ekspresi ER β adalah sebesar 0,945 atau sangat kuat dan signifikan pada angka signifikansi 0,01. Korelasi kedua variable bersifat searah karena nilai koefisien korelasinya bersifat positif, dengan demikian semakin ditingkatkan dosis maka ekspresi ER β juga akan meningkat. Nilai signifikansi sebesar 0.000 masih lebih kecil dari batas kritis ($\alpha=0.01$), maka artinya ada korelasi yang signifikan antara variabel dosis dengan ekspresi ER β ($0.00 < 0.01$). Sehingga ada korelasi signifikan yang sangat kuat dan searah antara dosis terhadap ekspresi ER β .

Dari tabel 5.2 menunjukkan tingkat korelasi antara variabel dosis terhadap jumlah epitel adalah sebesar 0.890 atau sangat kuat dan signifikan pada angka signifikansi 0.01. korelasi kedua variabel bersifat searah karena nilai koefisien korelasinya bersifat positif, dengan demikian semakin ditingkatkan dosis maka jumlah epitel juga akan meningkat. Nilai signifikansi sebesar 0.000 masih lebih kecil dari batas kritis ($\alpha=0.01$), maka artinya ada korelasi yang signifikan



antara variabel dosis dengan jumlah epitel ($0.00 < 0.01$), sehingga dapat disimpulkan antara dosis dan jumlah epitel memiliki korelasi signifikan yang sangat kuat dan searah.

Hasil uji korelasi antara ekspresi Er β terhadap jumlah epitel (tabel 5.2) menunjukkan adanya korelasi yang sangat kuat (0,827). Dari tabel 5.2 tampak korelasi kedua variable bersifat searah sehingga semakin meningkat ekspresi Er β akan diikuti dengan peningkatan sel epitel endometrium dengan nilai signifikansi 0.000 ($\alpha=0.01$).

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh DMPA Terhadap Ekspresi ER β dan Jumlah Epitel

Pada penelitian ini untuk menentukan kondisi hipoestrogen dilakukan dengan menggunakan swab vagina untuk mengetahui efek yang ditimbulkan akibat hipoestrogen. Hasil pemeriksaan apusan vagina didapatkan pemeriksaan apusan vagina setelah pemberian DMPA ditemukan leukosit dan tidak ada sel yang terkornifikasi. Pada saat estrogen dalam tubuh menurun akan ditemukan jumlah leukosit yang meningkat sebagai respon tubuh untuk melindungi diri terhadap patogen dari luar dan reaksi akibat penipisan dinding vagina dengan proses inflamasi (Chappell *et al.*, 2015). Selain itu lendir serviks menjadi lebih kental sebagai respon terhadap injeksi progesteron sintetis dari DMPA. Kondisi hipoestrogen akan mengakibatkan epitel vagina menipis, pengentalan lendir serviks, dan pada pemeriksaan apusan vagina ditemukan leukosit. Mekanisme kerja DMPA yaitu menghambat ovulasi dengan menekan hipotalamus, mengentalkan lendir serviks dan menipiskan endometrium (Allen *et al.*, 2016). Menipisnya endometrium dapat mempengaruhi proses implantasi hasil pembuahan yang menyebabkan kehamilan tidak dapat terjadi. Pada penelitian ini tidak dilakukan pemeriksaan kadar estrogen dalam darah, kondisi hipoestrogen ditetapkan berdasarkan hasil swab vagina yang menunjukkan efek hipoestrogen yaitu ditemukannya banyak leukosit akibat penipisan epitel vagina sebagai respon tubuh terhadap berkurangnya kadar estrogen dalam tubuh.

Kondisi hipoestrogen menyebabkan penurunan yang signifikan dalam ekspresi PR dan ER β , tetapi tidak pada ER α pada siklus menstruasi normal.

Ekspresi ER β meningkat pada pengobatan yang melibatkan estrogen. ER β mampu mengikat estrogen mirip dengan ER α dan setelah aktif ER β mampu



memberikan efek melalui signal hormonal pada jalur klasik. Pada pengobatan dengan estrogen mampu meningkatkan ekspresi ER α dan ER β pada stroma dan epitel endometrium (Wada-Hiraike *et al.*, 2006).

Pada penelitian ini ditemukan bahwa dengan pemberian DMPA rerata jumlah ER β dan jumlah epitel pada kelompok kontrol positif lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Rerata ekspresi ER β menunjukkan ada perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol positif dan negatif. Hal ini menunjukkan pemberian DMPA akan menurunkan ekspresi ER β . Rerata jumlah epitel menunjukkan ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif, hal ini menunjukkan pemberian DMPA juga menurunkan jumlah epitel endometrium. DMPA mengandung progesteron sintesis yang dapat di metabolisme dengan cepat pada manusia (Shoupe and Kjos, 2006). Progestin dalam DMPA beredar melalui darah dan menghambat hormon LH sehingga menghambat ovulasi. Terhambatnya ovulasi mengakibatkan rendahnya kadar estradiol pada wanita normal (Melmed, 2016). DMPA mampu menurunkan hormon estrogen dimana hormon estrogen berperan dalam membantu pertumbuhan uterus melalui estrogen reseptor yang memiliki konsentrasi paling tinggi pada fase proliferasi dan menurun setelah ovulasi sebagai respon terhadap meningkatnya progesteron. Rendahnya kadar estrogen mengakibatkan penurunan ekspresi estrogen reseptor pada endometrium (Skinner, 2018).

Estrogen reseptor bekerja melalui faktor transkripsi ligan aktif dan interaksi dengan jalur transduksi sinyal dari reseptor permukaan sel. Jika tidak ada hormon, ER akan berada dalam fase inaktivasi karena pengaruh Hsp90 (Matthews, 2003). Pada sebuah penelitian dengan menggunakan tikus transgenic dengan fungsi ovarium yang abnormal mengalami infertilitas akibat kekurangan estrogen. Hal ini berdampak pada fungsi endometrium yang berperan pada



kehamilan. (Lee *et al.*, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh fitrianingsih (2019), menemukan bahwa *depomedroksi progesterone acetat* mampu menurunkan ekspresi estrogen resptor α . Dalam penelitian lain yang dilakukan oleh hegazy (2015), DMPA mampu menurunkan ekspresi estrogen reseptor (α dan β) pada fase folikuler, sehingga menghambat proliferasi dan mengganggu fungsi endometrium. DMPA mengakibatkan menipisnya dinding endometrium akibat menurunnya kadar estrogen endogen dalam tubuh (Black *et al.*, 2004; Allen *et al.*, 2016). Proliferasi endometrium dipicu oleh kehadiran estrogen terkait dengan reseptor estrogen baik pada ER α maupun ER β (Strauss and Barbieri, 2013).

6.2 Pengaruh Ekstrak Bengkoang Terhadap Ekspresi ER β

Pada penelitian ini ditemukan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada ekspresi ER β pada masing-masing kelompok perlakuan. Peningkatan ekspresi ER β seiring dengan peningkatan dosis ekstrak bengkoang yang diberikan dimana ketiga dosis yang diberikan mampu meningkatkan ekspresi ER β pada tikus yang diberi DMPA. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol bengkoang yang mengandung fitoestrogen dengan berbagai dosis. Bengkoang merupakan tanaman yang mengandung fitoestrogen dengan struktur kimia yang menyerupai estrogen. Fitoestrogen mampu berikatan dengan reseptor estrogen terutama ER β . Harris (2005) dalam penelitiannya secara *in vitro* pada sel MCF-7 dengan mengevaluasi respon dari berbagai dosis fitoestrogen berdasarkan ada tidaknya 17beta-estradiol dengan hasil kandungan fitoestrogen memiliki transaktivasi diferensial dan kuat dari transkripsi yang diinduksi ER α dan ER β dengan aktivasi ER β 100 kali lebih kuat.

Bengkoang mengandung fitoestrogen jenis daidzein, dan genestein yang memiliki peran, dan memiliki kemampuan mengurangi resiko kardiovaskular dan gejala terkait dengan efek menopause. (Barrita *et al.*, 2015). Kondisi hipoestrogen



pada pengguna DMPA mampu menurunkan ekspresi reseptor estrogen dan mengakibatkan kondisinya mirip seperti gejala menopause (Hegazy and Hegazy, 2015). Pemberian ekstrak bengkoang dengan dosis yang tepat mampu memperbaiki efek yang ditimbulkan dari penggunaan DMPA dimana fitoestrogen dalam bengkoang dapat berikatan dengan ER β untuk merangsang proliferasi sel.

Penelitian lain dengan menggunakan genestein tidak mempengaruhi ekspresi mRNA ER α dalam sel granulosa babi yang dikultur sebaliknya konsentrasi ER β lebih tinggi dalam sel yang dikultur dengan genestein dibandingkan dengan kontrol bahkan semakin tinggi dosis genestein cenderung meningkatkan ER β dalam sel yang diperiksa. Dengan menggunakan imunohistokimia, ER β ditemukan dengan sel granulosa dalam nucleus sementara ER α tidak ditemukan dalam sel. (Nynca *et al.*, 2013)

ER β memiliki peran yang sangat terkait dengan ER α , dimana kedua reseptor estrogen ini dapat saling mengisi posisinya masing-masing (Stettner *et al.*, 2007). ER β dianggap berperan dalam mencegah tindakan yang dimediasi ER α yang berkaitan dengan estrogen (Hall and McDonnell, 2005). ER β memiliki tindakan yang berlawanan dengan ER α pada promotor gen yang sama dengan menanggapi efek dari estrogen (Winuthayanon *et al.*, 2010). Tikus yang di ovariectomi menunjukkan respon hiperproliferasi yang menyimpang tanpa adanya estrogen dan progesteron namun memiliki kadar androgen yang relatif tinggi yang berasal dari adrenal. Androgen berperan dalam mengatur ER β melalui reseptor hydrogen (AR) dan menghambat proliferasi sel pada sel kanker payudara (Rizza *et al.*, 2014). Apabila mekanisme serupa terjadi diendometrium maka aksi androgen dengan tingginya ekspresi ER β mungkin dapat menghambat proliferasi sel yang berlebihan pada endometrium. Peningkatan ekspresi ER β pada sel stroma diamati pada fase proliferaatif dengan indeks pewarnaan akan berkurang



setengahnya ketika fase sekretori berkembang dan tetap rendah pada kehamilan (Silvestri and Fraser, 2007).

ER β diekspresikan dalam semua jenis sel endometrium, termasuk epitel kelenjar dan sel stroma. Pada tikus menunjukkan bahwa ER β mungkin memainkan peran penting dalam mempertahankan lapisan endometrium. Sementara itu ekspresi mRNA ER β diseluruh siklus menstruasi jauh lebih rendah dibandingkan ER α meskipun tingkat ekspresi protein ER β tinggi sepanjang siklus menstruasi (Matsuzaki *et al.*, 1999). Ekspresi ER β pada epitel terkait dengan siklus menstruasi dimana ketika kadar estrogen tinggi maka dapat meningkatkan ekspresi ER β . Hal ini dikaitkan dengan kerja estrogen melalui ER α dan progesteron melalui PR telah terbukti meningkatkan transkripsi ER β (Wada-Hiraike *et al.*, 2006). Sehingga dapat dikatakan mekanisme ER β adalah membantu mempertahankan endometrium normal terkait pada proliferasi sel endometrium.

6.3 Pengaruh Ekstrak Bengkoang Terhadap Jumlah Epitel Endometrium

Pada penelitian ini ditemukan bahwa pemberian ekstrak bengkoang meningkatkan jumlah epitel endometrium pada berbagai dosis. Rerata jumlah epitel pada kelima kelompok perlakuan memiliki perbedaan bermakna ($p < 0,05$). Rerata jumlah sel pada kelompok positif dengan kelompok P1, P2, dan P3 dengan rerata kelompok kontrol positif memiliki rerata paling rendah. Pada kelompok P3 dan P2 tidak ada perbedaan yang bermakna sehingga kedua dosis tersebut memiliki kemampuan yang sama dalam meningkatkan jumlah epitel pada tikus. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak bengkoang dengan dosis 140mg/200grBB dan 280 mg/200grBB memberikan efek yang hampir sama. Dosis 280mg/200grBB dianggap memiliki kemampuan paling cepat meningkatkan jumlah epitel karena memiliki rerata paling besar dibandingkan kedua dosis lainnya.



Endometrium merupakan lapisan mukosa dalam rongga uterus yang mengalami perubahan mengikuti siklus reproduksi yang dipengaruhi oleh hormon estrogen dan progesteron (Heffner dan Schust, 2010). Estrogen merupakan hormon yang memediasi pertumbuhan endometrium dengan melalui estrogen reseptor. Endometrium mengalami fase yang terus berulang (proliferasi, sekresi dan menstruasi) selama siklus reproduksi. Strauss dan Barbieri (2013) Lapisan pada endometrium terdiri atas lapisan fungsional dan lapisan basal dimana Lapisan fungsional akan luruh (menebal dan menipis) mengikuti siklus menstruasi.

Sel epitel pada endometrium berperan dalam proses terjadinya implantasi Ovum yang telah dibuahi menempel pada lapisan endometrium sehingga dibutuhkan proliferasi sel endometrium untuk membantu terjadinya kehamilan (Hestianah *et al.*, 2014).

Pemberian ekstrak bengkoang dengan dosis 140 mg/200grBB dan 280mg/200grBB menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan artinya diantara kedua dosis tersebut menimbulkan efek yang hampir sama terhadap jumlah epitel dengan kelompok tikus normal (Bacciottini *et al.*, 2007). Fitoestrogen dapat mengubah pertumbuhan sel pada beberapa jalur signal transduksi, menghambat aktivitas protein tirosin kinase dan menurunkan autofosforilasi faktor reseptor pertumbuhan epidermal yang memfosforilasi residu tirosil binding receptor dan aktifitas MAPK dan mitogen proliferasi pada sel otot polos aorta manusia. Kebanyakan fitoestrogen terhidrolisis dikonjugasi oleh asam glucuronate (pecahan kecil terkonjugasi dengan salthin) dalam epitelium pada mekanisme usus yang merupakan mekanisme utama pada ditosisifikasi fitoestrogen. Sebagian kecil dari senyawa bebas yang dihidrolisis diserap melalui mukosa usus dan lumen dan mencapai sirkulasi darah yang tidak terkontrol. Fitoestrogen yang tidak terkonjugasi mencapai sirkulasi dikonjugasi oleh hati dan



jaringan lain termasuk ginjal. Setelah dikonsumsi fitoestrogen mengalami sirkulasi entrohepatik seperti halnya estrogen. (Mostrom dan Evans, 2011).

Pada fase proestrus sel epitel pada endometrium berproliferasi dan memanjang masuk ke dalam lapisan sub epitel yang dikenal sebagai stroma endometrium. Arteri muscular kecil yang dikenal sebagai arteri spiralis tumbuh kedalam dari lapisan basal endometrium diantara kelenjar-kelenjar yang memanjang. Tanda dari endometrium yang berproliferasi adalah seringnya proses mitosis didalam epithelium (Heffner and Schust, 2008). Penelitian yang dilakukan

oleh Tsutsumi (2011) menyatakan bahwa estradiol (E2) secara signifikan meningkatkan produk yang merangsang proliferasi endometrium pada manusia sehingga mempengaruhi interaksi epitel serta penyebarannya. Penelitian yang dilakukan oleh primiani (2011) dengan menggunakan ekstrak bengkoang menyatakan bahwa fitoestrogen pada bengkoang dapat meningkatkan proliferasi sel pada lapisan endometrium. Terjadinya proliferasi sel ditandai dengan meningkatnya jumlah sel pada endometrium sebagaimana yang didapatkan pada

penelitian ini dimana terjadi peningkatan jumlah epitel pada endometrium dengan pemberian ekstrak bengkoang pada berbagai dosis. Ekstrak bengkoang memiliki pengaruh positif terhadap penebalan dinding endometrium pada tikus karena fitoestrogen memiliki peran menyerupai estrogen endogen (Prakash and Dubois, 2015; Primiani, 2018). Terjadinya penebalan dinding endometrium diikuti dengan meningkatnya jumlah epitel pada endometrium dalam penelitian ini. Fitoesrogen dapat berikatan dengan reseptor estrogen pada sel target sehingga dapat meningkatkan ketebalan endometrium (Ariyanti and Apriliana, 2016; Mostrom and

Evans, 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Sholihah (2016), membuktikan bahwa pengaruh fitoestrogen dalam ekstrak etanol bengkoang mampu meningkatkan kadar estrogen dalam darah. Maka, pemberian ekstrak etanol



bengkoang dapat memperbaiki kondisi hipoestrogen sehingga dapat meningkatkan fungsi reproduksi.

6.4 Korelasi antara Dosis Ekstrak Bengkoang, Ekspresi ER β dan Jumlah Epitel Endometrium

Pada penelitian ini didapatkan korelasi yang sangat kuat dan searah antara variabel dependen (ER β dan jumlah epitel) dan independen (ekstrak bengkoang).

Dosis ekstrak bengkoang memiliki korelasi kuat dan searah dimana ketika dosis ditingkatkan akan diikuti dengan peningkatan ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium. Jadi ada korelasi antara dosis dan efek ekstrak bengkoang

terhadap peningkatan ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium pada tikus wistar model hipoestrogen dengan DMPA. Derivat isoflavon umumnya menginduksi reseptor dependen transkripsi dan induksi lebih kuat pada ER β

daripada ER α . Genestein berikatan dengan ER β hampir sama dengan 17beta estradiol tetapi dengan konsentrasi yang diperlukan untuk menginduksi transkripsi

104 kali lebih besar untuk genestein daripada untuk 17beta estradiol. Genestein dan deidzein mengurangi resiko kanker payudara dan prostat. Senyawa

fitoestrogen seperti Equol dan glikitin merangsang pertumbuhan sel mcf-7, konsentrasi senyawa ini diperlukan untuk pertumbuhan sel yang jauh lebih tinggi daripada konsentrasi 17 beta-estradiol. (Morito *et al.*, 2001).

Fitoestrogen mempengaruhi respon fisiologis yang berhubungan dengan reproduksi melalui berbagai mekanisme. Fitoestrogen dianggap sebagai estrogen

lemah namun jumlahnya dapat ditemukan dalam tubuh dua kali lipat lebih tinggi daripada estrogen endogen (Bacciottini *et al.*, 2007). Fitoestrogen telah ditemukan

dapat membantu pertumbuhan uterus dengan mengikat estrogen spesifik di sel target dan menyebar melalui membran sel hingga berikatan dengan reseptor

estrogen di sel target (Prakash and Dubois, 2015)



Estrogen memiliki dua macam reseptor yang memiliki perbedaan dimana

ER β dapat memodulasi efek ER α pada ekspresi reseptor progesteron endometrium dalam menanggapi estradiol sehingga proporsi ER α dan ER β di endometrium dapat menentukan respon terhadap estradiol dan analognya. ER β memiliki 47% homologi dengan ER alpha, dengan 96% homologi dalam domain pengikatan DNA dan 58% dalam domain ikatan ligan menunjukkan bahwa ER α dan ER β mengikat molekul estrogenic tunggal ke lokasi spesifik (Darbre, 2015).

Mekanisme utama kerja ER adalah sebagai factor transkripsi ligan-aktif (aksi genom). Pada sebuah penelitian dengan tikus transgenic menunjukkan fungsi ER secara spesifik. ER α sangat penting untuk pematangan uterus tetapi bukan untuk pengembangannya (Lee, Kim, & Choi, 2012). Dalam sebuah penelitian ditemukan bahwa ER β terdapat dalam nucleus mirip dengan ekspresi ER α . Selain nucleus sel epitel kelenjar dan stroma, ekspresi ER vascular tertinggi selama periode periovulasi, menunjukkan regulasi oleh estradiol dan peran dalam fungsi vascular. ER β memiliki peran penting dalam fungsi endometrium selain peran ER α dalam proliferasi dan diferensiasi endometrium (Lecce *et.al*, 2001).

ER β diekspresikan pada endometrium normal pada semua jenis sel di endometrium. ER β berfungsi menjaga lapisan endometrium pada fase preovulasi dan mengatur penyebaran epitel dan stroma untuk persiapan implantasi serta membantu menekan proliferasi sel epitel pada endometrium akibat ekspresi berlebihan dari ER α dan estrogen (Hapangama *et al.*, 2014).

Pada endometrium normal selain ER β terdapat reseptor lain yang juga berperan dalam regulasi sel pada endometrium selama siklus menstruasi. ER α merupakan reseptor yang bekerja pada endometrium yang memiliki kemampuan lebih kuat untuk berikatan dengan estrogen endogen dibanding ER β . Pada penggunaan fitoestrogen sebagai alternatif pengganti estrogen bagi wanita dengan kondisi hipoestrogen selain adanya ER β yang bekerja pada endometrium



dengan fitoestrogen, perlu dilakukan pengembangan penelitian lain terkait reseptor lain yang mungkin juga memiliki peran pada regulasi sel endometrium misalnya pada ER α yang memiliki struktur senyawa yang hampir sama dengan ER β . Sehingga dapat diketahui batasan dari kinerja masing-masing reseptor.

6.5 Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini kondisi hipoestrogen ditentukan dengan menggunakan swab vagina. Metode ini merupakan salah satu cara untuk mengetahui efek yang ditimbulkan oleh hipoestrogen dengan DMPA namun tidak dapat menentukan secara pasti kadar estrogen dalam tubuh tikus sehingga perlu dilakukan pengukuran kadar estrogen dalam tubuh tikus setelah injeksi DMPA.



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. DMPA menurunkan ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium pada tikus model hipoestrogen dengan DMPA.
2. Ekstrak Bengkoang meningkatkan ekspresi ER β pada tikus model hipoestrogen dengan DMPA.
3. Ekstrak Bengkoang meningkatkan jumlah epitel endometrium pada tikus model hipoestrogen dengan DMPA.
4. Terdapat korelasi yang sangat kuat dan searah antara dosis ekstrak bengkoang dengan ekspresi ER β dan jumlah epitel endometrium pada tikus model hipoestrogen dengan DMPA.

7.2 Saran

1. Penelitian lanjutan untuk melihat pengaruh ekstrak bengkoang terhadap ekspresi estrogen reseptor alfa sebagai salah satu reseptor estrogen yang berperan dalam pertumbuhan endometrium.
2. Penelitian lanjutan untuk melihat kadar estrogen endogen setelah pemberian fitoestrogen pada tikus model hipoestrogen dengan DMPA.
3. Penelitian lanjutan untuk membandingkan efek pemberian DMPA dan ekstrak bengkoang secara bersamaan (sebagai pencegahan) untuk meminimalisir efek samping penggunaan DMPA pada wanita yang menggunakan kontrasepsi.
4. Penelitian lanjutan untuk melihat uji toksisitas dan uji klinis untuk menentukan dosis yang ideal dan waktu efektif pemberian terapi.



DAFTAR PUSTAKA

Allen, R.H., Cwiak, C. and Kaunitz, A.M., 2016. The Handbook of Contraception, pp.125–138. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-20185-6>.

Ariyanti, H. and Apriliana, E., 2016. Pengaruh Fitoestrogen terhadap Gejala Menopause The Influence of Phytoestrogen on Menopause Symptom. *Peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia*, 5, pp.1–5.

Bacciottini, L. et al., 2007. Phytoestrogens: food or drug? *Clinical cases in mineral and bone metabolism*, 4(2), p.123.

Badan Kependudukan dan Keluarga Berencana Indonesia (BKKBN), 2016. Laporan Kinerja BKKBN Tahun 2015. Available at: https://www.bkkbn.go.id/po-content/uploads/LAKIP_BKKBN_2016_1.pdf.

Bancroft, J.D. and Gamble, M., 2008. *Theory and practice of histological techniques*, Elsevier Health Sciences.

Barone, M. et al., 2008. Estrogens, phytoestrogens and colorectal neoproliferative lesions. *Genes & nutrition*, 3(1), p.7.

Barrita, J.L.S., Benavides, S.M. and Sánchez, S., 2015. Antioxidants and Natural Compounds in Mexican Foods. In: *Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress*. IntechOpen.

Black, A. et al., 2004. Canadian contraception consensus. *Journal of obstetrics and gynaecology Canada: JOGC= Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada: JOGC*, 26(4), pp.347–387.

Brown, S.B. and Hankinson, S.E., 2015. Endogenous estrogens and the risk of breast, endometrial, and ovarian cancers. *Steroids*, (Part A), pp.8–10. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.steroids.2014.12.013>.

Campbell Neil, A., Reece, J.B., Urry, L.A. and Michael, L., 2010. *Biologi, Edisi Kedelapan Jilid 3*. Jakarta, Erlangga.

Chappell, C.A. et al., 2015. The effect of menopause on the innate antiviral activity of cervicovaginal lavage. *American journal of obstetrics and gynecology*, 213(2), pp.204–e1.

Darbre, P.D., 2015. *Disruptors of Estrogen Action and Synthesis*, Elsevier Inc.

DeMayo, F.J., Zhao, B., Takamoto, N. and Tsai, S.Y., 2002. Mechanisms of action of estrogen and progesterone. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 955, pp.48–59.

Deroo, B.J. et al., 2006. Estrogen receptors and human disease. *Journal of Clinical Investigation*, 116(3), pp.561–570. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24188405%5C>



Eroschenko, V.P. and Di Fiore, M.S.H., 2013. *DiFiore's atlas of histology with functional correlations*, Lippincott Williams & Wilkins.

Fitrianingtyas, R. and Anggreni, E., 2019. Pengaruh Depomedroksi Progesteron Asetat (Dmpa) Terhadap Ekspresi Estrogen Reseptor Alpha (Er-A) Pada Rattus Novergicus. *Jurnal Ilmiah Kebidanan (Scientific Journal of Midwifery)*, 5(1), pp.38–43.

Ford Jr, J.A. et al., 2006. Estrogenic effects of genistein on reproductive tissues of ovariectomized gilts. *Journal of animal science*, 84(4), pp.834–842.

Haider, S. and Darney, P.D., 2007. Injectable contraception. *Clinical obstetrics and gynecology*, 50(4), pp.898–906.

Hall, J.M. and McDonnell, D.P., 2005. Coregulators in nuclear estrogen receptor action: from concept to therapeutic targeting. *Molecular interventions*, 5(6), pp.343–357.

Hamid, H. and Zakaria, M., 2013. Reproductive characteristics of the female laboratory rat. *African Journal of Biotechnology*, 12(19), pp.2510–2514. Available at: <http://www.academicjournals.org/AJB>.

Hamilton, K.J., Hewitt, S.C., Arai, Y. and Korach, K.S., 2017. *Estrogen Hormone Biology* 1st ed., Elsevier Inc.

Hapangama, D.K., Kamal, A.M. and Bulmer, J.N., 2014. Estrogen receptor β : the guardian of the endometrium. *Human reproduction update*, 21(2), pp.174–193.

Harris, D.M. et al., 2005. Phytoestrogens induce differential estrogen receptor alpha-or beta-mediated responses in transfected breast cancer cells. *Experimental Biology and Medicine*, 230(8), pp.558–568.

Heffner, L.J. and Schust, D.J., 2008. At a Glance Sistem Reproduksi Edisi Kedua. *Jakarta: Erlangga Medical Series*.

Heffner, L.J. and Schust, D.J., 2010. *The reproductive system at a glance*, John Wiley & Sons.

Hegazy, R. and Hegazy, A., 2015. DMPA-Induced Changes in Estrogen and Progesterone Receptors of Ampulla of Rat-oviducts: An Immunohistochemical Study. *Universal Journal of Medical Science*, 3(2), pp.33–40.

Hestianah, E.P., Anwar, C., Kuncorojakti, S. and Yustinasari, L.R., 2014. BUKU AJAR HISTOLOGI VETERINER JILID 2. *Departemen Anatomo Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya*.

Jacobstein, R. and Polis, C.B., 2014. Progestin-only contraception: Injectables and implants. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 28(6), pp.795–806. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2014.05.003>.



Khan, D. and Ansar Ahmed, S., 2016. The immune system is a natural target for estrogen action: opposing effects of estrogen in two prototypical autoimmune diseases. *Frontiers in immunology*, 6, p.635.

Kisambira, A., Muyonga, J.H., Byaruhanga, Y.B. and Tukamuhabwa, P., 2015. Composition and Functional Properties of Yam Bean (*Pachyrhizus* spp.) Seed Flour. *Food and Nutrition Sciences*, (May), pp.736–746.

Krinke, G.J., 2000. *The laboratory rat*, Elsevier.

Lara, L.A.D.S. et al., 2009. REVIEWS: The Effects of Hypoestrogenism on the Vaginal Wall: Interference with the Normal Sexual Response. *The journal of sexual medicine*, 6(1), pp.30–39.

Lecce, G. et al., 2001. Presence of estrogen receptor β in the human endometrium through the cycle: Expression in glandular, stromal, and vascular cells. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86(3), pp.1379–1386.

Lee, H.-R., Kim, T.-H. and Choi, K.-C., 2012. Functions and physiological roles of two types of estrogen receptors, ER α and ER β , identified by estrogen receptor knockout mouse. *Laboratory Animal Research*, 28(2), p.71. Available at: <https://synapse.koreamed.org/DOIx.php?id=10.5625/lar.2012.28.2.71>.

Leveno, K.J. et al., 2009. *Obstetri williams: Panduan ringkas*. Jakarta: EGC.

Lobo, R.A., 2007. *Treatment of the postmenopausal woman: basic and clinical aspects*, Elsevier.

Low, M.J. et al., 2008. *Williams textbook of endocrinology*.

Lukitaningsih, E., Wisnusaputra, A. and Sudarmanto, B.S.A., 2009. Scrinig In Silico Active Compound Of *Pachyrhizus erosus* As Antitirozinase On *Aspergillus Oryzae* (Computational Study With Homology Modeling And Molecular Docking). *Majalah Obat Tradisional (Traditional Medicine Journal)*, 20(1), pp.7–15.

Matsuzaki, S. et al., 1999. Oestrogen receptor α and β mRNA expression in human endometrium throughout the menstrual cycle. *Molecular human reproduction*, 5(6), pp.559–564.

Matthews, J., 2003. Estrogen Signaling: A Subtle Balance Between ER α and ER β . *Molecular Interventions*, 3(5), pp.281–292. Available at: <http://molinterv.aspetjournals.org/cgi/doi/10.1124/mi.3.5.281>.

Meendering, J.R. et al., 2008. Estrogen, medroxyprogesterone acetate, endothelial function, and biomarkers of cardiovascular risk in young women. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 294(4), pp.H1630–H1637.

Melmed, S., 2016. *Williams textbook of endocrinology*, Elsevier Health Sciences.



Messina, M., Messina, V.L. and Chan, P., 2011. Soyfoods, hyperuricemia and gout: a review of the epidemiologic and clinical data. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 20(3), pp.347–358.

Morán, J. et al., 2013. 17 β -Estradiol and genistein acute treatments improve some cerebral cortex homeostasis aspects deteriorated by aging in female rats. *Experimental gerontology*, 48(4), pp.414–421.

Morito, K. et al., 2001. Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors α and β . *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 24(4), pp.351–356.

Mostrom, M. and Evans, T.J., 2011. Phytoestrogens. In: *Reproductive and developmental toxicology*. Elsevier, pp. 707–722.

Mumford, S.L. et al., 2013. Serum uric acid in relation to endogenous reproductive hormones during the menstrual cycle: findings from the BioCycle study. *Human reproduction*, 28(7), pp.1853–1862.

Nursyah, D.A., 2012. Gambaran Siklus Estrus Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Ovariektomi Yang Diberi Tepung Daging Teripang (*Holothuria scabra*).

Nynca, A. et al., 2013. Effects of the phytoestrogen, genistein, and protein tyrosine kinase inhibitor–dependent mechanisms on steroidogenesis and estrogen receptor expression in porcine granulosa cells of medium follicles. *Domestic animal endocrinology*, 44(1), pp.10–18.

Parhizkar, S., Latiff, L.A., Rahman, Sabariah Abdul, et al., 2011. In vivo estrogenic activity of *Nigella sativa* different extracts using vaginal cornification assay. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(32), pp.6939–6945.

Parhizkar, S., Latiff, L.A., Rahman, Sabariah A and Dollah, M.A., 2011. Preventive effect of *Nigella sativa* on metabolic syndrome in menopause induced rats. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(8), pp.1478–1484.

Partodihardjo, S., 1992. Ilmu reproduksi ternak. *Edisi ke-3. Sumber Widy, Jakarta*.

Paterni, Iliaria, Granchi, C., Katzenellenbogen, J. and Minutolo, F., 2014. Estrogen Receptors Alpha and Beta Subtype-Selective Ligands and Clinical Potential. , 18(11), pp.1492–1501.

Patisaul, H.B. and Jefferson, W., 2010. The pros and cons of phytoestrogens. *NIH (National Institutes of Health) Public Access*.

Patisaul, H.B., Whitten, P.L. and Young, L.J., 1999. Regulation of estrogen receptor beta mRNA in the brain: Opposite effects of 17 β -estradiol and the phytoestrogen, coumestrol. *Molecular Brain Research*, 67(1), pp.165–171.

Prakash, I. and Dubois, G.E., 2015. High-potency sweetener composition with phytoestrogen and compositions sweetened therewith.



Prayogha, P.K.G., 2012. Profil Hormon Ovari Sepanjang Siklus Estrus Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina Menggunakan Fourier Transform Infrared (Ftir) Profil Hormon Ovari Sepanjang Siklus Estrus Tikus (*Rattus norvegicus*) Betina Menggunakan Fourier Transform Infrared (Ftir), p.22.

Primiani, C.N., 2011. Dinamika Senyawa Daidzein Umbi Bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) dalam Darah serta Potensinya pada Tikus Putih Betina. *Jurnal*, pp.1–7.

Primiani, C.N., 2018. Fitoestrogen Umbi Bengkuang (*Pachyrhizus erosus*): Sebuah Kajian Hasil Penelitian dalam Perspektif Holistik.

Primiani, C.N., 2015. The Phytoestrogenic Potential of Yam Bean (*Pachyrhizus erosus*) on Ovarian and Uterine Tissue Structure of Premenopausal Mice. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, 4(1), pp.5–9.

Rizza, P. et al., 2014. Estrogen receptor beta as a novel target of androgen receptor action in breast cancer cell lines. *Breast cancer research*, 16(1), p.R21.

Santoso, S., 2005. Mengolah Data Statistik Secara Profesional. *Jakarta: Elex Media Komputindo (Gramedia)*.

Sereepapong, W. et al., 2004. Endometrial progesterone and estrogen receptors and bleeding disturbances in depot medroxyprogesterone acetate users. *Human Reproduction*, 19(3), pp.547–552.

De Sharp, P. and Villano, J.S., 2013. Important biological features, in the laboratory rat.

Sholihah, R., 2016. Efek Pemberian Ekstrak Etanol Bengkoang (*Pachyrhizus Erosus*) Terhadap Gambaran Histopatologi Kaput Tulang Tibia Dan Kadar Estrogen Darah Tikus (*Rattus Norvegicus*) Model Menopause. [thesis]. *Malang: Universitas Brawijaya*.

Shoupe, D. and Kjos, S.L., 2006. *The handbook of contraception*, Springer.

Silvestri, A. and Fraser, H.M., 2007. Oestrogen and progesterone receptors in the marmoset endometrium: changes during the ovulatory cycle, early pregnancy and after inhibition of vascular endothelial growth factor, GnRH or ovariectomy. *Reproduction*, 134(2), pp.341–353.

Skinner, M.K., 2018. *Encyclopedia of Reproduction second edition*, Center for Reproductive Biology, School of Biological Sciences, Washington State University, Pullman, WA, USA.

Sørensen, M., 1996. Yam Bean: *Pachyrhizus DC.*-Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. *Bioersity International.*, 2 (Vol. 2).

Speroff, L. and Darney, P.D., 2010. *A clinical guide for contraception*, Lippincott Williams & Wilkins.



Steel, R.G.D. and Torrie, J.H., 1995. Prinsip dan prosedur statistik suatu pendekatan biometrik. *Principles and Procedures of Statistics, terjemahan Ir, Bambang Sumantri* Cetakan ke-3, PT. Gramedia, Jakarta.

Stettner, M. et al., 2007. The relevance of estrogen receptor- β expression to the antiproliferative effects observed with histone deacetylase inhibitors and phytoestrogens in prostate cancer treatment. *Molecular cancer therapeutics*, 6(10), pp.2626–2633.

Strauss, J.F. and Barbieri, R.L., 2013. *Yen & Jaffe's Reproductive Endocrinology E-Book: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management*, Elsevier Health Sciences.

Supranto, J., 2000. Teknik sampling untuk survei dan eksperimen. *Jakarta: Rineka Cipta*.

Suprihatin, 2008. Optimalisasi Kinerja Reproduksi Tikus Betina Setelah Pemberian Tepung Kedelai Dan Tepung Tempe Pada Usia Prapubertas. , pp.1–7.

Tsutsumi, A. et al., 2011. Estrogen induces stromal cell-derived factor 1 (SDF-1/CXCL12) production in human endometrial stromal cells: a possible role of endometrial epithelial cell growth. *Fertility and sterility*, 95(1), pp.444–447.

Tunikasari, A.S., 2015. Pengaruh Ekstrak Bengkuang (*Pachyrhizus erosus*) terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Diet Tinggi Lemak.

Veisi, F. and Zangeneh, M., 2013. Comparison of Two Different Injectable Contraceptive Methods: Depo-medroxy Progesterone Acetate (DMPA) and Cyclofem. *Journal of Family & Reproductive Health*, 7(3), p.109. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24971112> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4064779> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4064779/>.

Wada-Hiraike, O. et al., 2006. Role of estrogen receptor β in uterine stroma and epithelium: insights from estrogen receptor β -/- mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(48), pp.18350–18355.

Wang, D. et al., 2011. Puerarin suppresses invasion and vascularization of endometriosis tissue stimulated by 17 β -estradiol. *PLoS ONE*, 6(9), pp.1–6.

Weihua, Z. et al., 2000. Estrogen receptor (β) (ER β), a modulator of ER α in the uterus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(11), pp.5936–41.

WHO, 2014. WHO Statement on Depot-medroxyprogesterone acetate (DMPA) Key facts. , pp.1–2.

Winuthayanon, W. et al., 2010. Uterine epithelial estrogen receptor α is dispensable for proliferation but essential for complete biological and biochemical responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(45), pp.19272–19277.



Lampiran 1 Surat Keterangan Kelaikan Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Jalan Veteran Malang - 65245, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 52 / EC / KEPK – S2 / 02 / 2019

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

- JUDUL** : Pengaruh Ekstrak Etanol Bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) terhadap Sistem Reproduksi pada Model Tikus *Wistar* Model Hipoestrogen dengan Injeksi DMPA.
- PENELITI UTAMA** : Suryanti S, S.Keb.,Bd
Eka Frenty Hadiningsih, SST
Mayasari Putri Ardela, S.Keb.,Bd
- UNIT / LEMBAGA** : S2 Kebidanan - Fakultas Kedokteran - Universitas Brawijaya Malang.
- TEMPAT PENELITIAN** : Laboratorium Sentral Biomedik dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Institut Biosains Universitas Brawijaya, dan UPT Materia Medica Kota Batu.
- DINYATAKAN LAIK ETIK.**



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

Catatan :
Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan 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 Hewan coba



UD. ABADI JAYA
PETERNAKAN HEWAN UJI

Jl. Ring Road Utara, Gandok gg. Narodo No: 3X, Condong Catur, Depok Sleman, Yogyakarta 55283, Telp. 083840398002, 085228117444

SURAT KETERANGAN
No. 96 / AJ / 32 / IV / 2019

Yang bertanda tangan dibawah ini atas nama UD. ABADI JAYA menerangkan bahwa

Nama : Suryanti, S Nim : 176070400111006

Institusi : Universitas Brawijaya

Prodi : S2 Kebidanan

Alamat : Jl. Veteran, Malang

Telah melakukan pembelian (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, jenis kelamin Betina, dalam keadaan sehat.

Guna Penelitian Dengan Judul :

Pengaruh Ekstrak Etanol Bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) Terhadap Sistem Reproduksi Pada Model Tikus Wistar Hipoestrogen dengan DMPA

Pembelian dilakukan pada tanggal 11 Februari 2019

Demikian, semoga surat keterangan ini dapat digunakan sebaik-baiknya.

Yogyakarta, 11 Februari 2019

Adesky Tofas
ABADI JAYA
Telp. 083840398002

Lampiran 3 Surat Keterangan Ekstrak



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

SURAT KETERANGAN EKSTRAK
No. 074 / 18C / 102.7 / 2019

Bersama ini kami sampaikan hasil ekstraksi berikut ini :

1. Identitas Pemohon

NAMA	NIM	
SURYANTI. S	176070400111006	FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MAYASARI PUTRI ARDELA	176070400111013	
EKA FRENTY HADININGSIH	176070400111025	

2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Bengkoang
Nama latin : *Pachyrhizus erosus*
Bagian sampel : Buah
Bentuk sampel : Serbuk
Asal sampel : Malang
Jumlah sampel : 300 gram

3. Hasil

No.	Parameter	Hasil
1	Proses	
	a. Metode	Maserasi
	b. Jumlah perlakuan	1 kali
	c. Pelarut	Etanol 96%
	d. Jumlah pelarut	2400 ml
	e. Waktu evaporasi	1,5 jam
2	Hasil	
	a. Bentuk sediaan	Cair
	b. Bahan tambahan	-
	c. Kadar air	-
	d. Berat / volume	34 ml

4. Pustaka

- Ditjen POM, 1986. "Sediaan Galenik", Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Sudjadi, 1986. "Metode Pemisahan", UGM Press, Yogyakarta.
- Nugroho, Agung. 2017. "Teknologi Bahan Alam". Lambung Mangkurat University Press. Banjarmasin.

Demikian disampaikan untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.





Lampiran 4 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 : 402 /UN10.F08.08/PN/2019

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

- Judul : Pengaruh Ekstrak Etanol Bengkoang (*Pachyrizus erosus*) Terhadap Ekspresi Estrogen Reseptor Dan Jumlah Epitel Endometrium Pada Tikus Wistar Model Hipoestrogen Dengan DMPA
- Penulis : Suryanti S
- NIM : 176070400111006
- Jumlah Halaman : 77
- Jenis Artikel : Tesis (Program Studi Magister Kebidanan)
- Kemiripan : 4 %

Demikian surat keterangan ini agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

22 JUL 2019

Ketua Badan Penerbitan Jurnal,



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



Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian



1. Buah bengkoang



2. Mesin Pengering simplisia



3. Membersihkan bak hewan coba



4. Injeksi DMPA



5. Sonde Ekstrak Bengkoang



6. Pembuatan slide histopatologi



Lampiran 6 Analisis Data

Hasil uji normalitas data

1. Hasil uji normalitas data ekspresi ERβ

Tests of Normality

	kelompok pengamatan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
ekspresi ERβ (%)	kontrol (-)	.179	5	.200 [*]	.971	5	.881
	kontrol (+) (DMPA)	.281	5	.200 [*]	.839	5	.161
	P1 (DMPA + Eks. Bengkoang 70mg/200gr BB)	.168	5	.200 [*]	.965	5	.846
	P2 (DMPA + Eks. Bengkoang 140mg/200gr BB)	.189	5	.200 [*]	.941	5	.670
	P3 (DMPA + Eks. Bengkoang 280mg/200gr BB)	.311	5	.127	.817	5	.112

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

a. Lilliefors Significance Correction

2. Hasil uji normalitas data jumlah sel epitel

Tests of Normality

	kelompok pengamatan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah epitel	kontrol (-)	.163	5	.200 [*]	.991	5	.984
	kontrol (+) (DMPA)	.235	5	.200 [*]	.894	5	.377
	P1 (DMPA + Eks. Bengkoang 70mg/200gr BB)	.295	5	.178	.865	5	.248
	P2 (DMPA + Eks. Bengkoang 140mg/200gr BB)	.176	5	.200 [*]	.971	5	.881
	P3 (DMPA + Eks. Bengkoang 280mg/200gr BB)	.154	5	.200 [*]	.971	5	.884

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

a. Lilliefors Significance Correction

Hasil uji komparasi antar kelompok pada data ekspresi ER β

Oneway

Descriptives

ekspresi ERbeta (%)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol (-)	5	19.0200	3.35961	1.50246	14.8485	23.1915	14.50	22.90
kontrol (+) (DMPA)	5	5.6200	1.23369	.55172	4.0882	7.1518	3.60	6.60
P1 (DMPA + Eks. Bengkoang 70mg/200gr BB)	5	8.7800	1.11893	.50040	7.3907	10.1693	7.20	10.00
P2 (DMPA + Eks. Bengkoang 140mg/200gr BB)	5	15.2000	1.86548	.83427	12.8837	17.5163	12.60	17.10
P3 (DMPA + Eks. Bengkoang 280mg/200gr BB)	5	39.9000	11.47584	5.13215	25.6509	54.1491	31.00	58.70
Total	25	17.7040	13.27367	2.65473	12.2249	23.1831	3.60	58.70

ANOVA

ekspresi ERbeta (%)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3631.626	4	907.906	30.418	.000
Within Groups	596.944	20	29.847		
Total	4228.570	24			

Uji Duncan
Homogeneous Subsets

ekspresi ERbeta (%)

	kelompok pengamatan	N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Duncan ^a	kontrol (+) (DMPA)	5	5.6200			
	P1 (DMPA + Eks. Bengkoang 70mg/200gr BB)	5	8.7800	8.7800		
	P2 (DMPA + Eks. Bengkoang 140mg/200gr BB)	5		15.2000	15.2000	
	kontrol (-)	5			19.0200	
	P3 (DMPA + Eks. Bengkoang 280mg/200gr BB)	5				39.9000
	Sig.		.371	.078	.282	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.



Hasil uji komparasi antar kelompok pada data jumlah sel epitel

Oneway

Descriptives

jumlah epitel

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol (-)	5	80.80	14.805	6.621	62.42	99.18	62	102
kontrol (+) (DMPA)	5	37.00	8.689	3.886	26.21	47.79	25	45
P1 (DMPA + Eks. Bengkoang 70mg/200gr BB)	5	53.40	6.656	2.977	45.14	61.66	47	62
P2 (DMPA + Eks. Bengkoang 140mg/200gr BB)	5	70.60	7.603	3.400	61.16	80.04	62	82
P3 (DMPA + Eks. Bengkoang 280mg/200gr BB)	5	81.80	4.658	2.083	76.02	87.58	75	87
Total	25	64.72	19.452	3.890	56.69	72.75	25	102

ANOVA

jumlah epitel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7407.040	4	1851.760	22.124	.000
Within Groups	1674.000	20	83.700		
Total	9081.040	24			

Uji Duncan Homogeneous Subsets

jumlah epitel

kelompok pengamatan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a kontrol (+) (DMPA)	5	37.00		
P1 (DMPA + Eks. Bengkoang 70mg/200gr BB)	5		53.40	
P2 (DMPA + Eks. Bengkoang 140mg/200gr BB)	5			70.60
kontrol (-)	5			80.80
P3 (DMPA + Eks. Bengkoang 280mg/200gr BB)	5			81.80
Sig.		1.000	1.000	.081

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Hasil Uji Korelasi

1. Hasil uji normalitas data dosis ekstrak bengkoang

Warnings

dosis ekstrak Bengkoang (mg) is constant when kelompok perlakuan = P1 (DMPA + Eks. Bengkoang 70mg/200gr BB). It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.
 dosis ekstrak Bengkoang (mg) is constant when kelompok perlakuan = P2 (DMPA + Eks. Bengkoang 140mg/200gr BB). It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.
 dosis ekstrak Bengkoang (mg) is constant when kelompok perlakuan = P3 (DMPA + Eks. Bengkoang 280mg/200gr BB). It will be included in any boxplots produced but other output will be omitted.

kelompok perlakuan

Case Processing Summary

	kelompok perlakuan	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
dosis ekstrak Bengkoang (mg)	P1 (DMPA + Eks. Bengkoang 70mg/200gr BB)	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	P2 (DMPA + Eks. Bengkoang 140mg/200gr BB)	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	P3 (DMPA + Eks. Bengkoang 280mg/200gr BB)	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%

Tests of Normality^{a,b,c}

- a. dosis ekstrak Bengkoang (mg) is constant when kelompok perlakuan = P1 (DMPA + Eks. Bengkoang 70mg/200gr BB). It has been omitted.
 b. dosis ekstrak Bengkoang (mg) is constant when kelompok perlakuan = P2 (DMPA + Eks. Bengkoang 140mg/200gr BB). It has been omitted.
 c. dosis ekstrak Bengkoang (mg) is constant when kelompok perlakuan = P3 (DMPA + Eks. Bengkoang 280mg/200gr BB). It has been omitted.

2. Hasil uji korelasi dosis terhadap ekspresi estrogen reseptor beta

Nonparametric Correlations

Correlations

		Dosis Ekstrak Bengkoang	Eksresi ERbeta
Spearman's rho	Correlation Coefficient	1.000	.945**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	15	15
	Correlation Coefficient	.945**	1.000
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	15	15

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



3. Hasil uji korelasi dosis terhadap jumlah epitel endometrium

Nonparametric Correlations

Correlations

		Dosis Ekstrak Bengkoang	Jumlah Epitel
Dosis Ekstrak Bengkoang	Correlation Coefficient	1.000	.890**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	15	15
Spearman's rho	Correlation Coefficient	.890**	1.000
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	15	15

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

4. Hasil uji korelasi estrogen reseptor beta terhadap jumlah epitel endometrium

Correlations

		Jumlah Epitel	Ekspresi ERbeta
Jumlah Epitel	Pearson Correlation	1	.827**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	15	15
Ekspresi ERbeta	Pearson Correlation	.827**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	15	15

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



Lampiran 7. Letter of Acceptance

7/11/2019

ICoLiST 2019 - Letter of Acceptance

Print this page



ICoLiST 2019

International Conference on Life Sciences and Technology 2019
THE IOI Malang OJ Hotel, 12 September 2019
Website: <http://icolist.biologi.um.ac.id/2019>
Email: icolist.biologi@um.ac.id

Date: 11 July 2019

Letter of Acceptance

Dear Authors: Eka Frenty Hadiningsih (1,5,a), Mayasari Putri Ardela (1,b), Suryanti S (1,6,b), Tatit Nurseta (2), Noorhamdani (3), Sri Winarsih (3), Kenty Wantri Anita (4), Aina Angelina (4)

We are pleased to inform you that your abstract (ABS-22, Oral Presentation), entitled:

"The Effect Of Bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) Ethanol Extract On The Number Of Ovarian Follicles, And Amount Of Epithelium And Endometrium Stroma In DMPA-Treated *Rattus norvegicus*"

has been reviewed and accepted to be presented at ICoLiST 2019 conference to be held on 12 September 2019 in Malang, Indonesia.

Please submit your full paper and make the payment for registration fee before the deadlines, visit our website for more information.

Thank You.

Best regards,

Hendra Susanto, S.Pd., M.Kes., Ph.D.
ICoLiST 2019 Chairperson



RIWAYAT HIDUP

Suryanti. S., Lahir di Ujung Pandang, 21 Maret 1990

anak pertama dari dua bersaudara putri dari bapak

Drs.Sudirman.S dan Ibu Hj. Mastura, S.Pd. Lulus SD

Negeri 71 Rappojawa Makassar tahun 2002, lulus

SLTP Negeri 4 Makassar tahun 2005, dan lulus SMA

Negeri 17 Makassar tahun 2008. Tahun 2008

melanjutkan pendidikan DIII Kebidanan di Universitas



Muslim Indonesia Makassar, lulus tahun 2011. Melanjutkan Pendidikan S1

Kebidanan tahun 2012 di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya

dan lulus program Profesi Bidan pada 2015 di Fakultas Kedokteran Universitas

Airlangga Surabaya. Pada tahun 2017 mengambil pendidikan program studi

Magister Kebidanan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Tahun

2011 sampai 2012 penulis bekerja di RS Ibnu Sina Makassar dan tahun 2015

sampai sekarang bekerja di Universitas Muslim Indonesia Makassar.