

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### **6.1 Perbedaan Ekspresi Bcl-2 pada Kelompok yang Dipapar Cypermethrin Dibandingkan dengan Kelompok yang Tidak Dipapar**

Bcl-2 merupakan salah satu anggota keluarga protein Bcl-2. Bcl-2 bersifat anti apoptosis dengan cara kerja menghambat kerja Bax / Bak. Regulasi apoptosis sangat tergantung dari rasio antara Bcl-2 dan Bax untuk menentukan apakah sel akan apoptosis atau tetap bertahan hidup. Jika protein anti apoptosis lebih rendah dari protein yang pro apoptosis maka apoptosis akan terjadi. Apoptosis pada ovarium pada saat masih janin melibatkan oosit dan pada masa dewasa melibatkan sel granulosa (Hadi, 2011; Hussein, 2005)

Berdasarkan uji LSD rerata ekspresi Bcl-2 pada kelompok perlakuan cypermethrin dosis 10 mg /kg BB dengan kelompok control menunjukkan ada perbedaan bermakna berarti cypermethrin dosis 10 mg/kg BB sudah mampu menurunkan ekspresi Bcl-2. Pada kelompok perlakuan cypermethrin dosis 15 mg/kg BB dibandingkan dengan dosis 10 mg kg BB menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna. Kelompok perlakuan dosis 20 mg/kg BB menunjukkan ada perbedaan yang bermakna dan mempunyai kemampuan yang lebih banyak dalam menurunkan ekspresi Bcl-2 dibandingkan dengan dosis 10 mg/kg BB dan 15 mg/kg BB. Berdasarkan uji *Anova one way* diperoleh data ada perbedaan yang bermakna rerata keempat kelompok sampel pengamatan, hal ini ditunjukkan dengan nilai  $p\text{-value} = 0.000 < \alpha$ .

Penurunan ekspresi Bcl-2 sebagai protein yang anti apoptosis dapat dikarenakan mekanisme aksi dari cypermethrin. Cypermethrin masuk ke tubuh melalui mulut dan akan diabsorpsi dalam tubuh. kemudian dimetabolisme dalam darah dan akan mempengaruhi beberapa organ. Salah satunya adalah

hipotalamus dan hipofisis sehingga dapat menyebabkan penurunan dari hormon LH, FSH dan estrogen. Penurunan FSH dan estrogen memicu sel granulosa menjadi apoptosis dan atresia. Hal ini dibuktikan dari penelitian Sanga, *et al* (2013) menunjukkan bahwa cypermethrin dosis 50 mg menghasilkan folikel atresia yang parah yang disebabkan karena apoptosis. Hal ini dapat disebabkan karena terjadi penurunan ekspresi Bcl-2 atau meningkatnya ekspresi Bax. Dan sesuai dengan penelitian Filali *et al* (2009), yang menyatakan bahwa pada wanita dengan pemberian terapi FSH dan LH menunjukkan ekspresi Bcl-2 menjadi naik dan tidak terjadi apoptosis pada ovarium.

Perbedaan ekspresi Bcl-2 juga disebabkan karena meningkatnya ROS. Cypermethrin dapat menginduksi stres oksidatif, yang akan menghasilkan ketidakseimbangan oksidan dan antioksidan. Stres oksidatif dapat mengakibatkan kerusakan struktur sel, dan dapat menginduksi kerusakan DNA dan apoptosis. Kerusakan DNA dan apoptosis karena dipapar cypermethrin tergantung dari dosis (Taju, 2014). Apoptosis ini terjadi melalui jalur intrinsik atau jalur mitokondria yang disebabkan oleh sinyal dalam sel yang melibatkan keluarga Bcl seperti Bcl-2 dan Bax. Apoptosis pada ovarium dapat terjadi pada sel germinal, sel granulosa, teka interna dan di sel luteal. Bcl-2 mempunyai peran yang penting dalam terjadinya apoptosis di ovarium.

Dalam penelitian dengan tikus model ini ekspresi Bcl-2 pada sel granulosa pada kelompok perlakuan dengan dosis 10 mg sudah dapat menurunkan ekspresi Bcl-2 dengan demikian dosis 10 mg/kg BB sudah mampu menginduksi terjadinya apoptosis. Dosis 15 mg/kg BB tidak bermakna secara statistik dibandingkan dengan dosis 10 mg/kg BB ini menunjukkan dosis 10 mg/kg BB dan 15 mg/kg BB mempunyai kemampuan yang sama dalam menurunkan ekspresi Bcl-2. Pada kelompok dosis 20 mg/kg BB mempunyai kemampuan lebih banyak dalam menurunkan ekspresi Bcl-2 dibandingkan dengan dosis 10 mg/kg BB dan dosis 15

mg /kg BB. Penurunan ekspresi Bcl-2 pada kelompok yang dipapar menunjukkan bahwa cypermethrin dapat menginduksi terjadinya apoptosis pada jalur intrinsik atau jalur mitokondria meskipun dengan dosis yang rendah yaitu 10 mg / kg BB dan 20 mg/kg BB mempunyai kemampuan yang lebih banyak menginduks Untuk mengetahui apakah juga dapat melalui jalur ekstrinsik dengan melakukan pengujian pada TNF tetapi pada penelitian ini tidak dilakukan .

Berdasarkan fakta dari hasil penelitian dan ditunjang dengan teori maka hipotesis dalam penelitian ini terbukti yaitu ada perbedaan ekspresi Bcl-2 pada kelompok yang dipapar cypermethrin dengan kelompok yang tidak dipapar.

## **6.2 Perbedaan Jumlah Folikel Antral pada Ovarium *Rattus norvegicus* pada Kelompok yang Dipapar Cypermethrin Dibandingkan dengan Kelompok yang Tidak Dipapar**

Pada uji LSD menunjukkan pada kelompok perlakuan cypermethrin dosis 10 mg/kg BB dan dosis 15 mg /kg BB menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna. Sedangkan pada kelompok perlakuan cypermethrin dosis 20 mg/kg BB ada perbedaan yang bermakna. Sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan pemberian cypermethrin dosis 20 lebih banyak menurunkan jumlah folikel antral pada tikus *Rattus norvegicus*. Berdasarkan uji *Anova one way* diperoleh nilai *p-value* = 0.046 <  $\alpha$  yang menunjukkan ada perbedaan yang bermakna jumlah folikel antral pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol .tetapi penurunan yang bermakna secara statistik hanya pada dosis 20 mg / kg BB.

Paparan cypermethrin per oral akan diabsorpsi oleh tubuh melalui saluran pencernaan, dimetabolisme dalam darah serta didistribusikan ke seluruh tubuh termasuk ke sistem reproduksi. Cypermethrin dapat terakumulasi dalam lemak tubuh, kulit, hati, ginjal, kelenjar adrenal, ovarium, paru – paru, darah dan jantung (Chen et al, 2015). Akumulasi cypermethrin juga dapat mempengaruhi fungsi banyak organ dan salah satunya adalah organ reproduksi (Das et al, 2016). Organ reproduksi salah satunya adalah ovarium yang berfungsi untuk

menghasilkan folikel. Akumulasi cypermethrin dapat merusak ovarium dalam bentuk penurunan jumlah folikel. Hal ini sesuai dengan penelitian Mukadam (2014) Pada kelompok yang dipapar cypermethrin selama 30 hari menunjukkan pembengkakan dinding folikel dan pecah, oosit menunjukkan fragmentasi sitoplasma dan terjadi penyusutan folikel. Kerusakan pada organ reproduksi terutama ovarium perlu diperkuat dengan pemeriksaan kadar MDA dalam ovarium tetapi dalam penelitian ini tidak dilakukan.

Fungsi organ reproduksi dipengaruhi oleh hormon dari sumbu hipotalamus – hipofisis – ovarium. Cypermethrin mempengaruhi sekresi hormon yang dikeluarkan oleh hipofisis. Terjadi penurunan hormon LH dan FSH dan estrogen. hal ini menunjukkan bahwa cypermethrin dapat menghambat fungsi ovarium. Penurunan sekresi hormon LH dan FSH dan dari hipofisis anterior dan estrogen dari ovarium disebabkan karena tindakan langsung dari cypermethrin pada hipofisis anterior (Das *et al*, 2016). Penurunan hormon FSH akan menghambat pertumbuhan dan perkembangan folikel dalam ovarium. Hal ini juga sesuai dengan penelitian Solati *et al* (2010) didapatkan bahwa dosis cypermethrin 10 mg/kg, 15 mg/kg dan 20 mg/kg yang dipaparkan pada mencit selama 30 hari secara signifikan menurunkan kadar hormon FSH dan LH dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Pada penelitian dengan model tikus ini terjadi penurunan jumlah folikel pada kelompok yang diberikan perlakuan cypermethrin dosis 20 mg / kg BB kemungkinan disebabkan karena adanya mekanisme umpan balik dari hipotalamus – hipofisis – ovarium. Penurunan hormon FSH karena paparan cypermethrin dosis 20 mg / kg BB menyebabkan folikel tidak berkembang dan menyebabkan banyak folikel menjadi atresia. Bisa juga disebabkan folikel tidak berproliferasi sehingga tidak terbentuk antrum.

Berdasarkan hasil penelitian dan teori yang dipaparkan maka telah membuktikan hipotesis dalam penelitian ini yang menyatakan bahwa ada perbedaan jumlah folikel antral pada kelompok yang dipapar dengan cypermethrin.

### **6.3 Hubungan Ekspresi Bcl-2 pada Sel Granulosa dengan Jumlah Folikel Antral**

Apoptosis pada ovarium dipicu oleh sinyal internal (jalur intrinsik) dan Bcl-2 mempunyai peranan dalam terjadinya apoptosis. Berdasarkan analisis uji korelasi *Pearson* antara ekspresi Bcl-2 dengan jumlah folikel antral pada *Rattus norvegicus* yang diberi cypermethrin menunjukkan bahwa ada hubungan/korelasi yang bermakna dengan ( $p\text{-value}=0.000<\alpha$ ) dengan ditunjukkan tingkat keeratan hubungan korelasi yang tinggi dengan nilai koefisien korelasi yaitu 0.776.

Seperti telah dijelaskan sebelumnya bahwa cypermethrin masuk ke tubuh melalui mulut dan akan diabsorpsi dalam tubuh. kemudian dimetabolisme dalam darah dan akan mempengaruhi beberapa organ. Salah satunya adalah hipotalamus dan hipofisis sehingga dapat menyebabkan penurunan dari hormon LH, FSH dan estrogen. Penurunan FSH dan LH memicu folikel menjadi apoptosis dan atresia. Banyaknya folikel yang atresia maka jumlah folikel yang sehat akan berkurang.

Peran Bcl-2 di apoptosis ovarium adalah penurunan jumlah folikel, dan mengarah ke apoptosis folikel dan atresia (Hussein, 2005). Hal ini sesuai dalam penelitian ini bahwa penurunan Bcl-2 disertai dengan penurunan jumlah folikel antral pada ovarium *Rattus norvegicus*.

Dapat disimpulkan dari hasil penelitian dan teori di atas bahwa hipotesis dalam penelitian ini terbukti yaitu ada hubungan ekspresi Bcl-2 dengan jumlah foliikel antral pada ovarium *Rattus norvegicus*.

#### **6.4 Keterbatasan Penelitian**

Keterbatasan dalam penelitian adalah peneliti tidak melakukan pemeriksaan kadar kolinesterase dalam darah untuk mengetahui kadar pestisida di dalam darah tikus, tidak mengukur kadar MDA pada ovarium untuk mengetahui kerusakan organ yang disebabkan karena stres oksidatif. Waktu yang dibutuhkan untuk pembedahan lebih lama karena fase proestrus tidak bersamaan untuk semua tikus. .