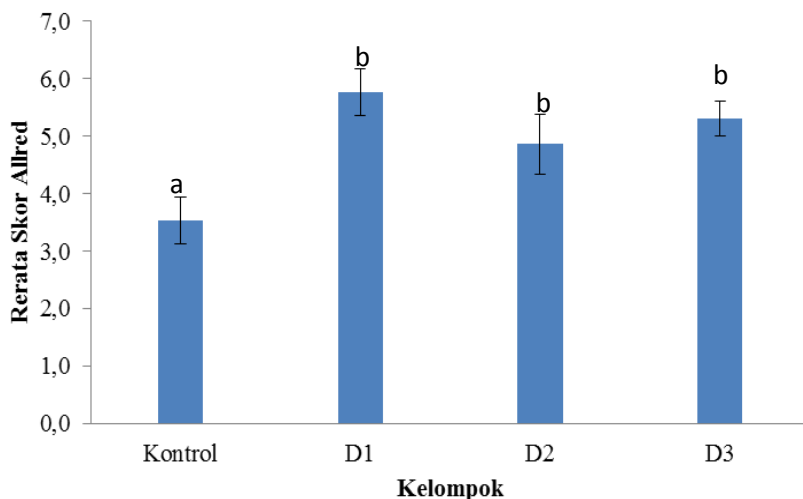


BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Skor *Allred* terhadap Ekspresi *Nrf2* pada Ovarium Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Premenopause

Ekspresi *Nrf2* pada ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) premenopause menghasilkan rerata skor *Allred* pada kelompok kontrol, P1, P2, dan P3 yaitu sebesar $3,53 \pm 0,4$; $5,76 \pm 0,4$; $4,86 \pm 0,51$ dan $5,30 \pm 0,3$ (Gambar 6).



Gambar 6. Rerata skor *Allred* terhadap ekspresi *Nrf2* pada masing-masing perlakuan. Keterangan: Kontrol, D1 (0,25 g/kg BB), D2 (0,5 g/kg BB), D3 (1 g/kg BB)

Hasil pengamatan jaringan ovarium pada kelompok kontrol, D1, D2 dan D3 menunjukkan adanya sel yang mengekspresikan *Nrf2* di ovarium tikus putih. Rerata jumlah sel yang mengekspresikan *Nrf2* paling tinggi yaitu pada dosis 1. Kemudian pada kelompok D2 dan D3 terlihat adanya jumlah sel yang mengekspresikan *Nrf2* cenderung

meningkat dibandingkan kelompok kontrol. *Ocimum canum* Sims. memiliki kemampuan untuk mengaktifkan enzim antioksidan.

Terdapat perbedaan yang signifikan pada empat kelompok perlakuan. Hasil pengujian selanjutnya dengan menggunakan uji Tukey didapatkan bahwa kelompok perlakuan yang berbeda adalah kelompok kontrol dengan dosis 1, dosis 2, dan dosis 3. Hasil analisis statistik menunjukkan perbedaan secara nyata (Lampiran 7). Kecenderungan peningkatan ekspresi Nrf2 pada D1, D2, dan D3 terhadap kelompok kontrol dapat terjadi karena adanya peningkatan antioksidan eksogen yang berasal dari kandungan flavonoid dalam serbuk daun kemangi (Okwu & Omodamiro, 2005). Ikatan Nrf2 dengan Keap-1 dapat dilepas oleh senyawa kimia dari tanaman *Ocimum canum* Sims. yaitu flavonoid. Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang paling efektif yaitu dengan cara mengikat radikal bebas secara langsung dan mengikat logam dengan cara mendonorkan elektronnya (Winarsi, 2007).

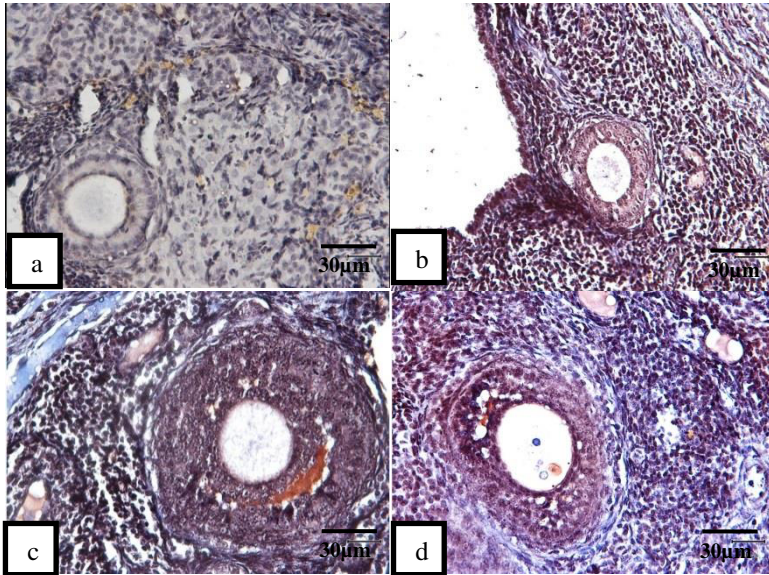
Ekspresi Nrf2 pada kelompok D2 menunjukkan adanya penurunan terhadap kelompok D1 tetapi ekspresi Nrf2 masih lebih tinggi terhadap kontrol. Hal ini dapat terjadi karena peningkatan produksi radikal bebas selama proses biosintesis steroid. Hal ini dapat terjadi karena enzim P450 *cytochrome* yang berfungsi sebagai enzim pembelah rantai kolesterol dalam mitokondria dapat menghasilkan kebocoran elektron dan menyebabkan terbentuknya radikal bebas (Hanukoglu, 2006). Peningkatan radikal bebas dapat menyebabkan akumulasi kerusakan oksidatif dan kematian sel (Araujo, 2011). Adanya peningkatan kerusakan biomolekul dan kematian sel menyebabkan berkurangnya ekspresi Nrf2.

Ekspresi Nrf2 pada kelompok D3 mengalami peningkatan terhadap kelompok D2. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya peningkatan jumlah antioksidan akibat adanya rangsangan akumulasi aktivitas radikal bebas, karena aktivitas antioksidan dapat terjadi karena stimulasi dari aktivitas radikal bebas (Winarsi, 2007). Adanya aktivitas antioksidan dapat menstabilkan akumulasi radikal bebas sehingga menghasilkan molekul yang lebih stabil dan tidak reaktif (Nijveldt, 2001). Aktivitas antioksidan dapat menghambat proses stres oksidatif sehingga jaringan lebih mudah untuk mempertahankan struktur dan fungsi normalnya (Winarsi, 2007).

Ekspresi Nrf2 pada ovarium tikus putih (*Rattus norvegicus*) premenopause dapat dideteksi dengan adanya warna coklat pada sel granulosa dan sel interstisial sebagai hasil dari pewarnaan imunohistokimia dengan antibodi anti-Nrf2. Warna coklat pada sel

granulosa dan sel interstisial menunjukkan keberadaan ekspresi Nrf2 di inti. Familiari (1991) menjelaskan bahwa sel interstisial merupakan sel yang berada diluar folikel yang berfungsi untuk proses biosintesis steroid. Sel interstisial dapat dikelompokkan menjadi dua berdasarkan asalnya yaitu sel interstisial primer dan sel interstisial sekunder. Sel interstisial primer berasal dari sel stroma yang tidak memiliki hubungan dalam perkembangan folikel. Sel interstisial sekunder merupakan sel yang berasal dari sel teka interna pada folikel yang mengalami atresia. Ekspresi Nrf2 di sel granulosa dapat ditemukan di setiap perkembangan folikel yaitu folikel primordial, folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, selain itu ekspresi Nrf2 juga ditemukan di korpus luteum.

Nuclear factor erythroid 2 related factor 2 (Nrf2) yang terekspresi di sel granulosa dan sel interstisial, merupakan Nrf2 yang mengalami aktivasi. Aktivasi tersebut menyebabkan Nrf2 bertranslokasi menuju nukleus. Kemudian Nrf2 berikatan dengan *Antioxidant Response Element* (ARE) bersama protein *small Musculoaponeurotic fibrosarcoma* (sMaf) untuk mengaktivasi ekspresi enzim sitoprotektif seperti *Glutathione Peroxidase* (Son dkk., 2008). *Glutathione Peroxidase* adalah enzim paling penting untuk menghilangkan hidrogen peroksida dari membran sel. Secara umum, antioksidan dapat mencegah ROS dan melindungi sel dari kematian sel akibat penuaan (Pangkahila, 2007).



Gambar 7. Histopatologi skor Allred ekspresi Nrf2 pada ovarium tikus (*Rattus norvegicus*) premenopause. Keterangan: (M: 400x, 1 barr=30µm) a) Kontrol, b) D1 (0,25 g/kg BB tikus), c) D2 (0,5 g/kg BB tikus), dan D3 (1 g/kg Bb tikus)