



JNK

JURNAL NERS DAN KEBIDANAN

<http://jnk.phb.ac.id/index.php/jnk>



***Extra Virgin Olive Oil* meningkatkan Ekpresi Reseptor Estrogen A dan ketebalan Endometrium Rattus Norvegicus yang dipapar Rhodamin B**



Ita Noviasari

Magister Kebidanan, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Indonesia

Info Artikel

Sejarah Artikel:

Diterima, 12/11/2018

Disetujui, 18/12/2018

Di Publikasi, 19/12/2018

Kata kunci:

Rhodamin B, Extra Virgin Olive Oil (EVOO), Reseptor Estrogen, Ketebalan Endometrium

Abstrak

Rhodamin B berbahaya bagi tubuh karena terbukti dapat meningkatkan stres oksidatif pada berbagai jaringan reproduksi wanita. Rhodamin B mengandung senyawa klorin (Cl), merupakan senyawa halogen yang berbahaya dan reaktif. Kerusakan pada hipotalamus akan mengganggu sekresi FSH dan LH sehingga menyebabkan pematangan folikel terganggu yang berakibat pada penurunan hormone estrogen. Hormon estrogen berperan penting dalam siklus menstruasi dan proliferasi endometrium. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh Extra Virgin Olive Oil (EVOO) terhadap ekspresi reseptor estrogen A dan ketebalan endometrium pada Rattus norvegicus yang dipapar rhodamin B. Desain penelitian true experimental dengan menggunakan pendekatan post test only control group design. Penelitian ini menggunakan hewan coba yaitu tikus putih (Rattus norvegicus strain wistar). Hasil penelitian menunjukkan bahwa EVOO dapat menjadi alternatif pencegahan stress oksidatif akibat paparan rhodamin B.

✉ Correspondence Address:

Universitas Brawijaya, Malang - East Java, Indonesia

Email: inoviasari@yahoo.co.id

This is an Open Access article under

The CC BY-SA license (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)

DOI: [10.26699/jnk.v5i3.ART.p201-206](https://doi.org/10.26699/jnk.v5i3.ART.p201-206)

P-ISSN : 2355-052X

E-ISSN : 2548-3811

Extra Virgin Olive Oil Increase The Estrogen Receptor's Expression Á And The Endometrium Thicknessof Rattus Norvegicus Exposed By Rhodamin B

History Article:

Received, 12/11/2018
Accepted, 18/12/2018
Published, 19/12/2018

Keywords:

Rhodamin B, Extra Virgin Olive Oil (EVOO), Estrogen receptors α , the thickness of the Endometrium

Abstract

Rhodamin B is harmful to the body because it is proven can increase the oxidative stress on various reproductive chain. Rhodamin B contains compounds of chlorine (Cl), is dangerous and halogen compounds are reactive. Damage to the hypothalamus will interfere with the secretion of FSH and LH cause the follicle ripening so distracted that result in a decrease in the hormone estrogen. The hormone estrogen plays an important role in the menstrual cycle and proliferation of the endometrium. This research aimed to prove the effect of Extra Virgin Olive Oil (EVOO) with the expression of estrogen receptors á and endometrial thickness of Rattus norvegicus exposed by rhodamin B. The design used true experimental with an approach of post test only control group design. The research used white rat (Rattus norvegicus wistar strain) as the sample. The results showed that EVOO could become an alternative to prevent oxidative stress due to exposure of rhodamin B.

PENDAHULUAN

Rhodamin B banyak digunakan sebagai tambahan zat pewarna karena harganya yang murah, mudah didapatkan dipasaran dan tampilannya pun lebih cerah dan terlihat lebih menarik (Muchtadi, 2012). Warna menarik biasanya menjadi prioritas utama dalam produksi makanan (Mukono, 2005). Tujuan penggunaan zat pewarna dalam pangan antara lain adalah untuk membuat pangan menjadi lebih menarik, menyeragamkan warna pangan dan mengembalikan warna dari bahan dasar yang hilang atau berubah selama pengolahan.

Rhodamin B berbahaya bagi kesehatan manusia karena sifat kimia dan kandungan logam beratnya. Rhodamin B mengandung senyawa klorin (Cl). Senyawa klorin merupakan senyawa halogen yang berbahaya dan reaktif (BPOM, 2005). Jika tertelan, maka senyawa ini akan berusaha mencapai kestabilan dalam tubuh dengan cara mengikat senyawa lain dalam tubuh, hal inilah yang bersifat racun bagi tubuh. Selain itu, Rhodamin B juga memiliki senyawa pengalkilasi (CH₃-CH₃) yang bersifat radikal sehingga dapat berikatan dengan protein, lemak, dan DNA dalam tubuh (BPOM, 2005).

Menurut penelitian Febrina *et al.*, (2013), Rhodamin B dengan dosis 600 ppm berpengaruh signifikan, dalam memperlambat panjang siklus estrus pada mencit betina. Hormon estrogen memiliki reseptor intraseluler yang spesifik, ikatan antara hormon estrogen dengan reseptor inilah yang menjadi kunci dari kerja hormon estrogen pada sel target.

Paparan Rhodamin B pada *Rattus norvegicus* berpengaruh pada hipotalamus, ovarium dan endometrium (Sulistina, 2013). Rhodamin B juga menurunkan kadar 17 β Estradiol dan ketebalan endometrium (Maryanti *et al.*, 2014) sehingga diperlukan antioksidan yang merupakan molekul yang bisa memperlambat atau mencegah kerusakan akibat dari oksidasi dari molekul lain seperti radikal bebas (Heim *et al.*, 2002) sehingga diperlukan antioksidan yang merupakan molekul yang bisa memperlambat atau mencegah kerusakan akibat dari oksidasi dari molekul lain seperti radikal bebas (Heim *et al.*, 2002).

Hormon estrogen dibentuk oleh sel granulosa pada fase folikuler (Guyton dan Hall, 2016). Ukuran dan jumlah sel pada miometrium dan endometrium meningkat karena adanya stimulasi estrogen, disertai dengan tahapan pembentukan reseptor estrogen yang spesifik dan proses sintesa protein (Mylonas *et al.*, 2005). Pengaruh dari hormon estrogen men-

stimulasi sel epitel dan stroma endometrium berproliferasi serta meningkatkan ketebalan endometrium. Hormon estrogen yang masuk dalam sel target kemudian berikatan dengan reseptor estrogen yang berada pada nukleus sehingga reseptor estrogen menjadi aktif (Mylonas *et al.*, 2005).

Extra Virgin Olive Oil (EVOO) diperoleh secara eksklusif melalui prosedur fisik, lebih dari sekedar lemak tak jenuh tunggal karena mengandung antioksidan dalam jumlah yang tinggi, terutama senyawa fenolik dan vitamin E (β -tokoferol) (Fito *et al.*, 2007). Hasil penelitian dari Salem (2015), bahwa *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) mengandung Omega-3, omega-6, MUFA yang memiliki kemampuan kuat untuk meningkatkan fungsi hormonal dengan merangsang hipotalamus sehingga dapat meningkatkan fertilitas pada tikus. Oleh karena itu penelitian lebih lanjut dilakukan untuk mengetahui pengaruh *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) terhadap ekspresi reseptor estrogen α dan ketebalan endometrium pada *Rattus norvegicus* yang dipapar oleh rhodamin B.

BAHAN DAN METODE

Desain penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan pendekatan *post test only control group design*. Sampel yang digunakan adalah 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus strain wistar*) yang terbagi dalam 5 kelompok masing-masing 5 ekor dalam setiap kelompok perlakuan yaitu: 1) Kontrol Negatif/KN (Tikus tidak diberikan EVOO dan tidak dipapar rhodamin B, 2) Kontrol Positif/KP (Tikus tidak diberikan EVOO dan dipapar Rhodamin B dengan dosis 18 mg/200 g BB/hari), 3) Perlakuan 1/P1 (Diberikan EVOO dosis 1 yaitu 1,5 ml/KgBB/hari dan dipapar Rhodamin B dengan dosis 18 mg/200 g BB/hari, 2) Perlakuan 2/P2 (Diberikan EVOO dosis 2 yaitu 3 ml/KgBB dan dipapar Rhodamin B dengan dosis 18 mg/200 g BB/hari, 3) Perlakuan 3/P3 (Diberikan EVOO dosis 3 yaitu 4,5 ml/Kg BB/hari dan dipapar Rhodamin B dengan dosis 18 mg/200 g BB/hari).

Perlakuan dilakukan selama 36 hari dan diakhiri dengan sinkronisasi fase estrus sebelum tikus dibedah. Pembedahan dilakukan pada fase proestrus. Variabel independennya adalah pemberian *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) dan variabel dependen adalah ekspresi reseptor estrogen α dan ketebalan endometrium. Sel yang mengekspresikan ER α di endometrium dengan pengecatan antibodi ER α , menggunakan *imunostaining kit*. Kemudian difoto

dengan mikroskop Olympus pembesaran 400x dalam 10 lapang pandang, hasil diperoleh dengan menggunakan *software immunoratio* berupa persentase. Ketebalan endometrium diukur dengan menghitung rerata dari endometrium dengan ukuran 5 titik tebal tertinggi dan 5 titik terendah pada setiap sayatan, menggunakan pewarnaan HE dihitung dengan *Dot slide mikroskop Olympus* dengan pembesaran 400x, satuan menggunakan μm .

Data dianalisis secara statistik dengan tahapan sebagai berikut: uji prasyarat non parametrik yaitu normalitas dan homogenitas data sampel dengan uji *Shapiro-Wilk*, uji perbedaan menggunakan *mann whitney*, uji korelasi rank Spearman, dan uji regresi linier sederhana.

HASIL PENELITIAN

Eksresi Reseptor Estrogen α pada Endometrium *Rattus norvegicus* galur wistar

Eksresi reseptor estrogen α dihitung menggunakan *immunoratio software* yang menunjukkan inti sel epitel kelenjar dan sel stroma yang terwarnai coklat dalam 10 lapang pandang kemudian dirata-rata. Rata-rata angka Eksresi ER α tertinggi pada kelompok P3 dan rata-rata angka Eksresi ER α terendah pada kelompok kontrol positif. Peningkatan ekspresi reseptor estrogen α seiring dengan peningkatan dosis *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) yang diberikan.

Tabel 1 Hasil Analisis korelasi rank spearman EVOO dengan Ekspresi ER α

Correlation Coefficient	Signifikansi	Kesimpulan
0.969	0.000	Signifikan

Pada uji korelasi spearman didapatkan nilai signifikansi 0.000 lebih kecil dari α (0.05) yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara *Extra Virgin Olive Oil* dengan ekspresi ER α yang diukur. Hubungan searah antara dosis dengan ekspresi ER α pada taraf nyata 5% ditunjukkan dengan nilai *correlation* yang positif. Menurut Arikunto (2010), nilai korelasi yang berada diantara 0.80–1.00 masuk dalam kategori korelasi tinggi. Besarnya kontribusi dari variabel independen terhadap variabel dependen, didapatkan hasil perhitungan dengan nilai koefisien determinasi (R Square)

sebesar 0.915. Hasil tersebut menjelaskan kontribusi pengaruh *Extra Virgin Olive Oil* terhadap ekspresi ER α sebesar 91.5%, sedangkan 8.5% lainnya disumbangkan oleh variabel lainnya yang tidak dimasukkan ke dalam persamaan ini.

Ketebalan Endometrium *Rattus norvegicus* galur wistar

Ketebalan endometrium diukur dengan menghitung rerata dari endometrium dengan ukuran 5 titik tebal tertinggi dan 5 titik terendah pada setiap sayatan, menggunakan pewarnaan HE dihitung dengan *Dot slide mikroskop Olympus* dengan pembesaran 400x, satuan menggunakan μm . Rata-rata angka ketebalan endometrium tertinggi pada perlakuan Kontrol Negatif (KN) dan rata-rata angka ketebalan endometrium terendah pada perlakuan Kontrol Positif (KP). Kontrol Negatif berbeda nyata dengan kontrol positif, dan P1. Kontrol negatif tidak berbeda nyata dengan P2 dan P3. Peningkatan ketebalan endometrium seiring dengan peningkatan dosis *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) yang diberikan.

Tabel 2 Hasil Analisis korelasi rank spearman EVOO dengan Ketebalan Endometrium

Correlation Coefficient	Signifikansi	Kesimpulan
0.605	0.005	Signifikan

Pada uji korelasi spearman didapatkan nilai signifikansi 0.005 lebih kecil dari α (0.05) yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara *Extra Virgin Olive Oil* dengan ketebalan endometrium yang diukur. Hubungan searah antara dosis dengan angka ketebalan Endometrium pada taraf nyata 5% ditunjukkan dengan nilai *correlation* yang positif.

Variabel EVOO memiliki statistik uji t sebesar 3.551 dengan signifikansi sebesar 0.002. Nilai *signifikan* t lebih kecil dari α (0.05). Pengujian ini menunjukkan bahwa H_0 ditolak sehingga dapat disimpulkan bahwa *Extra Virgin Olive Oil* berpengaruh positif dan signifikan terhadap ketebalan Endometrium.

Besarnya kontribusi dari variabel independen terhadap variabel dependen, berdasarkan hasil perhitungan dengan nilai koefisien determinasi (R Square) sebesar 0.412. Hasil tersebut menjelaskan kontribusi pengaruh variabel EVOO terhadap variabel angka ketebalan Endometrium sebesar 41.2%.

Tabel 3 Ringkasan uji Regresi Linier Sederhana

Variabel	β	t_{hitung}	Signifikansi	Keterangan
Konstanta	379.982			
EVOO (X)	45.277	3.551	0.002	Signifikan
α				
Koefisien Determinasi (R^2)	= 0.050			
	= 0.412			

PEMBAHASAN

Pemberian *Extra Virgin Olive Oil (EVOO)* mampu meningkatkan Ekspresi Reseptor Estrogen Alfa ($ER \alpha$) pada *Rattus norvegicus* yang dipapar Rhodamin B

Pemberian *Extra Virgin Olive Oil (EVOO)* mampu meningkatkan ekspresi reseptor estrogen α dan ketebalan endometrium karena salah satu fungsi dari EVOO adalah sebagai antioksidan yang dapat menunda proses oksidasi yang terjadi di endometrium. Senyawa EVOO dapat menunda proses oksidasi diduga karena kandungan phenol yang bertindak sebagai pemutus rantai ion radikal dengan menyumbangkan hydrogen radikal pada hydrogen alkil peroksil yang dihasilkan oleh oksidasi lipid sehingga memperoleh turunan yang lebih stabil. Selain itu EVOO juga diduga dapat menurunkan ikatan dengan logam, meningkatkan enzim antioksidan endogenos serta meningkatkan transkripsi mRNA GPx sehingga dapat meminimalisir terjadinya peningkatan ROS yang dapat menyebabkan kerusakan pada organ reproduksi khususnya endometrium.

Extra Virgin Olive Oil berpengaruh signifikan terhadap ekspresi $RE \alpha$ dengan nilai signifikansi F (0.000) lebih kecil dari 0.05. Koefisien yang positif artinya EVOO dapat meningkatkan ekspresi $RE \alpha$ secara signifikan. Dengan besar kontribusi pengaruh EVOO terhadap ekspresi $RE \alpha$ sebesar 93.4%.

Pemberian *Extra Virgin Olive Oil* dapat meningkatkan rata-rata ekspresi $RE \alpha$ pada tikus yang dipapar rhodamin B karena *Extra Virgin Olive Oil* mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat tinggi dengan kandungan polifenol, yang mempunyai peran melawan terhadap radikal bebas, juga sebagai co factor enzim antioksidan di dalam tubuh yaitu Catalase (CAT), Super Okside Dismutase (SOD), glutathione peroxide (GPx). *Extra Virgin Olive Oil* menghambat radikal bebas yang terjadi pada hipotalamus karena pemberian rhodamin B sehingga hipotalamus dapat berfungsi normal dalam mense-

kresi GnRH dan menyebabkan estrogen berikatan dengan reseptornya semakin meningkat.

Pemberian *Extra Virgin Olive Oil (EVOO)* mampu meningkatkan Ketebalan Endometrium *Rattus norvegicus* yang dipapar Rhodamin B

Extra Virgin olive Oil berpengaruh signifikan terhadap ketebalan endometrium dengan nilai signifikansi F (0.002) lebih kecil dari 0.05. Koefisien yang positif artinya *Extra Virgin olive Oil* dapat meningkatkan ketebalan endometrium secara signifikan. Dengan besar kontribusi pengaruhnya terhadap ketebalan endometrium sebesar 41.2%.

Hal ini sejalan dengan penelitian Maryanti *et al* (2014) yang menyebutkan bahwa paparan rhodamin B selama 36 hari dengan dosis 18 Kg BB tikus bisa meningkatkan stress oksidatif yang berdampak terjadinya penurunan ketebalan endometrium.

Estradiol yang diproduksi di ovarium melalui proses aromatase steroid oleh sel granulosa, sehingga peningkatan produksi estradiol juga diikuti oleh banyaknya folikel yang terbentuk. Pada fase pra ovulasi atau fase folikuler, konsentrasi FSH bersirkulasi rendah tetapi karena konsentrasi estrogen dan inhibin meningkat maka keduanya terus memberi umpan balik untuk menekan pelepasan FSH. Umpan balik negatif dari estrogen menjaga LH tetap rendah, pada fase folikuler awal. Pada akhir fase folikuler, peningkatan konsentrasi estrogen mensensitisasi gonadotropin hipofisis terhadap GnRH yang menyebabkan terjadi lonjakan LH masih pra ovulasi dan memicu ovulasi serta proliferasi sel epitel dan sel stroma di endometrium (Guyton & Hall, 2007).

Korelasi antara *Extra Virgin Olive Oil* dengan ketebalan endometrium menunjukkan hubungan positif yang signifikan dengan nilai signifikansi (0.005) lebih kecil dari 0.05. Dengan angka korelasi 0.605 termasuk hubungan yang cukup tinggi. Hubungan yang seiring antara pemberian *Extra Virgin olive Oil* dengan peningkatan ketebalan endome-

trium *Rattus norvegicus* yang dipapar rhodamin B disebabkan oleh kandungan *Extra Virgin olive Oil* yang bertindak sebagai antioksidan yang menetralkan oksidan berlebih di dalam tubuh yang bias merusak fungsi dari organ reproduksi. Peran sebagai antioksidan, ditandai dengan adanya peningkatan dari aktivitas total plasma antioksidan, GSH-Px dan GSH. Selain itu juga ditandai dengan penurunan oksidasi sel darah merah, gastrointestinal, renal, oksidasi LDL, ROS, GSSG (Cicerale *et al.*, 2012).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Pemberian *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) berpengaruh positif untuk meningkatkan ekspresi reseptor estrogen α dan ketebalan endometrium *Rattus norvegicus* yang dipapar rhodamin B. *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) berfungsi sebagai antioksidan yang dapat menjadi alternative pencegahan terjadinya stress oksidatif akibat paparan rhodamin B.

Saran

Disarankan kepada wanita dalam usia reproduksi untuk menghindari penggunaan rhodamin B dalam pengolahan makanan dan menghindari membeli makanan yang kemungkinan mengandung rhodamin B karena sifatnya yang toksik dan berdampak negatif terhadap organ reproduksi, kepada peneliti lain disarankan untuk meneliti pengaruh *Extra Virgin Olive Oil* sebagai antioksidan terhadap berbagai organ.

DAFTAR RUJUKAN

- Arikunto, Suharsimi. (2010). *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- BPOM. (2005). *Pedoman Pertolongan Keracunan Untuk Puskesmas. Bidang Informasi Keracunan Pusat Informasi Obat dan Makanan*. Badan POM RI, Jakarta.
- Cicelare, S., Lucas, L.J., and Keast, R.S.J. (2010). Biological Activity of phenolic compounds present in virgin olive oil. *Molecular Sciences*. 11: 458-479
- Febrina RGAA., Wiratmini NI., Sudarti NW. (2013). Pengaruh Pemberian Rhodamin B Terhadap Siklus Estrus Mencit (*Mus Musculus L*) Betina. *Jurnal Biologi*, XVII(1): 21-23.
- Fito, M., Torre, D.R., Albaladejo, M.F., Khymenez, O., Marrugat, J., and Covas, M.I. (2007). *Ann Ist Super Sanita*. 43(4):375-381
- Guyton AC., dan Hall JE. (2007). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. EGC. Jakarta
- Heim KE., Tagliaferro AR., Bobilya DJ. (2002). Flavonoid antioxidant: Chemistry, Metabolism and Structure –Activity Relationship, *Nutr Biochem*, 13(10): 572-584.
- Maryanti S., Suciati S., Wahyuni ES., Santoso S., Wiyasa IWA. (2014). Rhodamin B Triggers Ovarian Toxicity Through Oxidative Stress. *Cukurova Medical Journal*, 39(3): 451-457
- Muchtadi D. (2012). *Pangan Fungsional dan Senyawa Bioaktif*. Alfabeta. Bandung.
- Mukono HJ. (2005). *Toksikologi Lingkungan*. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Sulistina D. (2013). *Pengaruh Rhodamin B Terhadap Ekspresi BAX (Bcl-2 Antagonist X) dan BCL-2 (B-cell lymphoma-2) Hypothalamus, FSH (Follicle Stimulating Hormone) dan LH (Luteinizing Hormone) Pada Rattus Norvegicus*. Universitas Brawijaya