

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) dan *World Health Organization* (WHO) mengemukakan bahwa infertilitas merupakan kegagalan pasangan dalam kehamilan setelah 12 bulan melakukan hubungan seksual tanpa perlindungan (Deyhoul, *et al.*, 2017). WHO secara global memperkirakan 50-80 juta pasangan (satu dari tujuh pasangan) atau sekitar dua juta pasangan infertil baru setiap tahun muncul dan jumlah ini terus meningkat setiap tahun (Indarwati, *et al.*, 2017). Prevalensi pasangan infertil di Indonesia pada tahun 2018 yaitu 15-25% dari seluruh pasangan yang ada dan tahun 2010 yaitu 10-15%. Angka ini menunjukkan bahwa kejadian infertil di Indonesia mengalami peningkatan setiap tahun (Risksedas, 2018). Sejumlah 4-6 juta pasangan infertil memerlukan penanganan infertilitas untuk mendapatkan keturunan (Rae *et al.*, 2015). Penanganan infertilitas yang terbatas membuat masalah infertilitas semakin tinggi (Inhorn, *et al.*, 2015).

Data dari Himpunan Endokrinologi Reproduksi dan Fertilitas Indonesia (HIFERI), Perhimpunan Fertilisasi *In Vitro* Indonesia (PERFITRI), Ikatan Ahli Urologi Indonesia (IAUI), dan Perkumpulan Obstetri dan Ginekologi Indonesia (POGI) tahun 2013 dalam penanganan infertilitas menunjukkan bahwa usia pasangan yang melakukan kunjungan ke klinik fertilitas sebesar 21% wanita berumur di bawah 35 tahun dan 26% perempuan berumur di atas 35 tahun (Kamath *et al.*, 2012). Laporan tahunan PERFITRI menunjukkan bahwa jumlah

penanganan bayi tabung mengalami peningkatan setiap tahun dari 6.008 siklus pada tahun 2015 menjadi 7.699 siklus pada tahun 2016 dengan tingkat keberhasilan yang mencapai 29% yang setara dengan tingkat keberhasilan internasional *pregnancy rate* sebesar 25-30% (PERFITRI, 2017). Data ini menunjukkan bahwa semakin tinggi jumlah penderita infertil yang berupaya menggunakan penerapan teknologi infertilitas yaitu teknologi reproduksi berbantu.

Teknologi reproduksi berbantu atau *Assisted Reproduction Technology* (ART) pada era modern bagi pasangan infertil bertujuan untuk meningkatkan angka fertilisasi, angka keberhasilan kehamilan dan kompetensi perkembangan embrio. Keberhasilan ART bergantung pada pemilihan oosit yaitu jumlah dan kematangan oosit. Pada *in vitro fertilization* (IVF) manusia, oosit yang didapat saat hiperstimulasi ovarium memiliki tingkat kematangan yang berbeda. Keberhasilan fertilisasi *in vitro* lebih banyak (70,7%) didapatkan pada oosit dengan maturasi metaphase II, demikian juga keberhasilan kehamilan didapatkan terbanyak (33,1%) pada oosit dengan maturasi metaphase II (Alvarez *et al.*, 2013). Selain itu, kompetensi perkembangan embrio ditentukan oleh proses pematangan sitoplasma dan inti oosit (Coello *et al.*, 2018). *In vitro maturation* (IVM) merupakan proses kompleks yang dipengaruhi oleh interaksi berbagai faktor-faktor regulasi yang mencakup keadaan biokimiawi oosit, interaksi sel oosit dengan kumulus (Khazaei *et al.*, 2017), dan interaksi sel oosit dengan lingkungan mikro sehingga dapat mendukung pertumbuhan dan perkembangan oosit di luar tubuh. Tahap profase pembelahan meiosis pertama dalam maturasi oosit sangat rentan terhadap berbagai kontaminasi berbahaya, seperti, obat-obatan, polutan

kimia (Wang *et al.*, 2017). Selain itu, oosit primer juga lebih sensitif terhadap lingkungan (Schatten dan Gheorghe, 2007) dan adanya peningkatan radikal bebas (Barakat *et al.* 2018). Keberhasilan IVM sampai ke tahap blastokista mempunyai banyak faktor yang mempengaruhi, yaitu jenis suplemen yang digunakan dalam medium IVM (Hammam *et al.*, 2010), klasifikasi oosit berdasarkan kelengkapan struktur/kualitas oosit (Wang *et al.*, 2017), risiko kontaminasi, dan kondisi medium (Sagirkaya *et al.*, 200)

Medium maturasi yang digunakan dalam IVM harus memiliki fungsi mekanis, fisikawi, dan kimiawi sehingga memberikan lingkungan yang optimum dalam menjamin pertumbuhan dan perkembangan oosit, serta memenuhi kebutuhan nutrisi sel. Kondisi medium maturasi *in vivo* tidak dapat ditiru sepenuhnya dalam situasi *in vitro* (Barakat *et al.* 2018). Penggunaan medium maturasi dasar dengan penambahan berbagai zat dan senyawa banyak diteliti untuk mempelajari maturasi oosit secara *in vitro*. Faktor penting yang mempengaruhi medium maturasi, antara lain: osmolaritas, sistem buffer, penambahan antibiotik, air yang digunakan, suhu, tekanan gas dan adanya radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS).

Produksi ROS meningkat pada gamet yang di kultur *in vitro* dibandingkan dengan *in vivo* (Lampiao, 2012). ROS dihasilkan pada berbagai tingkat yang bergantung komposisi yaitu proses endogen, seperti metabolisme sel normal dan faktor eksogen seperti bahan kimia yang ditambahkan ke medium, paparan cahaya, hiperoksida (Ileana *et al.*, 2012), tekanan gas CO₂, dan suhu. Kondisi dan komposisi medium maturasi memicu produksi ROS. Peningkatan suhu yang menimbulkan *Heat shock* (HS) pada oosit menyebabkan kerusakan pada medium dan beberapa unsur kimia penyusun medium membentuk senyawa radikal bebas

(Widjiati *et al.*, 2012). Kondisi medium maturasi oosit secara *in vitro* umumnya dilakukan pada kadar O₂ yang hampir sama dengan atmosfer berkisar 20%, kadar O₂ ini dilaporkan dapat menyebabkan terjadinya peningkatan metabolisme O₂ sehingga terjadi peningkatan pembentukan ROS (Mingoti *et al.*, 2009). ROS memiliki pengaruh positif terhadap oosit, yaitu sebagai molekul sinyal fisiologis yang memicu dimulainya kembali meiosis dari tahap diploten dan tahap MII *arrest* dalam proses maturasi oosit (Khazaei *et al.*, 2017) dan induksi respon mitogenik (Valko *et al.* 2006). ROS juga memiliki pengaruh negatif terhadap oosit, yaitu dapat berdifusi melewati membran sel dan mengubah sebagian besar jenis molekul seluler seperti, asam nukleat, protein dan lipid (Khazaei *et al.*, 2017). *Heat shock* (HS) yang menghasilkan radikal bebas dapat menghambat metafase I dan metafase II dalam proses pembelahan meiosis, meskipun HS tidak mempengaruhi proses *germinal vesicle breakdown* (GVBD) selama oogenesis (Naseer *et al.*, 2017).

ROS yang dihasilkan selama proses maturasi oosit secara *in vivo* diseimbangkan oleh pertahanan antioksidan endogen, yaitu cairan dalam tuba fallopi dan folikel serta sistem enzim antioksidan, seperti glutathione peroksidase, superoksida dismutase. Kompleks *cumulus oocyte* juga berperan dalam membantu mengendalikan penyebaran reaksi radikal bebas sehingga memberikan regulasi yang tepat dari keadaan redoks (Rahim *et al.*, 2011). Pertahanan antioksidan endogen pada oosit tidak cukup untuk mengatasi ROS yang ditemui selama maturasi *in vitro*. Ketidakseimbangan ROS dalam medium maturasi dan pertahanan antioksidan endogen oosit menyebabkan terjadinya jumlah ROS yang berlebihan sehingga menimbulkan keadaan stress oksidatif. Stress oksidatif dalam

proses maturasi oosit dapat menyebabkan kerusakan struktur sel seperti sitoskeleton, benang spindel, destabilisasi *maturating promoting factor* (MPF) (Khazaei *et al.*, 2017), kerusakan protein, peroksidasi lipid, dan disfungsi biologis sel.

Manipulasi media kultur *in vitro* dibutuhkan untuk meminimalkan stres oksidatif, meningkatkan hasil ART (Gupta *et al.*, 2010), dan meningkatkan kemampuan maturasi oosit (Barakat *et al.* 2018). Berbagai jenis antioksidan alami telah ditambahkan sebagai suplemen untuk medium *in vitro* mamalia (Rajesh *et al.*, 2009). Pemanfaatan obat dari bahan alam memiliki kelebihan unik karena pada umumnya harga murah, memiliki toksisitas dan efek samping lebih rendah, serta potensi terapeutik baik (Patra *et al.*, 2018). Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai sumber antioksidan alami, yaitu daun kelor. Penelitian yang dilakukan oleh Sreelatha dan Padma (2009) menunjukkan bahwa 1 gr ekstrak daun kelor antioksidan enzim menunjukkan aktivitas tingkat tinggi superoksida dismutase (SOD), dan katalase (CAT). Kandungan polifenol yang bertindak sebagai antioksidan yaitu fenolik (45,81 mg/g) dan flavonoid (27mg/gr) sehingga menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi. Flavonoid merupakan metabolit sekunder pada struktur polifenol yang memiliki efek biokimia, farmasi dan antioksidan (Panche *et al.*, 2016). Potensi flavonoid terbatas karena intoleransi pH, mudah teroksidasi, kelarutan dalam air yang sangat rendah (Anwar *et al.*, 2019), kapasitas absorpsi rendah karena tidak memiliki kemampuan untuk melintasi membran lipid dan ukuran molekul yang besar (Patra *et al.*, 2018) namun potensinya sangat baik untuk antioksidan tinggi sehingga formulasi karakteristik zat aktif diperlukan untuk mempertahankan manfaat senyawa (Duta *et al.*, 2019).

Sistem pengiriman obat pada bahan berukuran besar mengakibatkan ketidakstabilan *in vivo*, bioavailabilitas rendah, solubilitas rendah, absorpsi rendah, kapasitas difusi ke membran yang rendah dan permasalahan pada pengiriman target spesifik (Patra *et al.*, 2018). Biomaterial sebagai pengembangan sistem pengiriman obat berbasis nanoteknologi dapat memenuhi serangkaian karakteristik, seperti stabilitas yang baik, biokompatibilitas dan biodegradabilitas, muatan obat yang tinggi, sifat mekanik yang baik, pelepasan terkontrol atau berkelanjutan, perlindungan obat (Garcia *et al.*, 2017), adanya modifikasi kimia, dan struktur unik sebagai potensial *nanomedicine* (Patra *et al.*, 2018). Nanoteknologi adalah bidang penelitian medis era modern tentang desain, karakterisasi, produksi, dan penerapan struktur dimana partikel berada dalam kisaran 0,1-100 nm (Agrawal, *et al.*, 2014) yang menyebabkan bentuk dan ukuran partikel menunjukkan sifat zat aktif yang lebih baik (Vasanth *et al.*, 2014) sehingga membuat kelarutan zat aktif dan kemampuan distribusi senyawa zat aktif meningkat. Skala nano berada kisaran antara 1 hingga 1000 nm (Jeevanandam *et al.*, 2018). Sistem nanopartikel banyak dilaporkan berhasil meningkatkan stabilitas, melindungi zat aktif dari degradasi, mengendalikan pelepasan dalam sel (Duta *et al.*, 2019), dan meningkatkan kelarutan tanpa mengganggu aktivitas farmakologisnya. Penelitian yang dilakukan oleh Härter *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa enkapsulasi melatonin dalam bentuk *lipid core nanocapsule* (LNC) dalam *in vitro maturation* dapat meningkatkan beberapa kualitas blastokista.

Hasil penelitian tentang suplementasi nanopartikel ekstrak etanol daun kelor terhadap tingkat kematangan oosit dalam medium maturasi oosit kambing masih

belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, dibuat formulasi nanopartikel dengan tujuan untuk meningkatkan stabilitas zat aktif dari degradasi lingkungan, seperti penguraian enzimatik, oksidasi dan hidrolisis, serta memperbaiki absorpsi suatu senyawa zat aktif. Berdasarkan pernyataan di atas, penelitian tentang nanopartikel ini dibuat untuk mengetahui pengaruh suplementasi nanopartikel ekstrak daun kelor (*Moringa pterygosperma* Gaertn) dalam medium maturasi oosit kambing secara *in vitro* terhadap tingkat kematangan oosit.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah suplementasi nanopartikel ekstrak etanol daun kelor (*Moringa pterygosperma* Gaertn) dapat meningkatkan tingkat kematangan oosit dengan dosis 250, 500, dan 750 μg pada medium maturasi oosit kambing secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini memiliki tujuan, sebagai berikut.

1.3.1 Tujuan umum

Menganalisis pengaruh suplementasi nanopartikel ekstrak etanol daun kelor (*Moringa pterygosperma* Gaertn) dapat meningkatkan tingkat kematangan oosit dengan dosis 250, 500, dan 750 μg pada medium maturasi oosit kambing secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan terdapat perbedaan tingkat kematangan oosit pada suplementasi nanopartikel ekstrak etanol daun kelor (*Moringa pterygosperma* Gaertn) antara dosis 250 μg dan kelompok kontrol dalam medium maturasi oosit kambing secara *in vitro*.

2. Membuktikan terdapat perbedaan tingkat kematangan oosit pada suplementasi nanopartikel ekstrak etanol daun kelor (*Moringa pterygosperma* Gaertn) antara dosis 500 µg dan kelompok kontrol dalam medium maturasi oosit kambing secara *in vitro*.
3. Membuktikan terdapat perbedaan tingkat kematangan oosit pada suplementasi nanopartikel ekstrak etanol daun kelor (*Moringa pterygosperma* Gaertn) antara dosis 750 µg dan kelompok kontrol dalam medium maturasi oosit kambing secara *in vitro*.
4. Menganalisis hubungan antara peningkatan dosis nanopartikel ekstrak etanol daun kelor (*Moringa pterygosperma* Gaertn) dengan peningkatan tingkat kematangan oosit

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki manfaat, sebagai berikut.

1.4.1 Teoritis

Memberikan informasi dan pengetahuan tentang manfaat suplementasi nanopartikel ekstrak daun kelor (*Moringa pterygosperma* Gaertn) terhadap tingkat kematangan oosit dalam medium maturasi oosit kambing secara *in vitro* sebagai antioksidan alami.

1.4.2 Praktis

Memberikan informasi atau rujukan untuk melakukan penelitian lebih lanjut yang berkaitan tentang pemanfaatan daun kelor (*Moringa pterygosperma* Gaertn) terhadap tingkat kematangan oosit sapi.