

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Di seluruh dunia > 186 juta orang menderita infertilitas, mayoritas adalah penduduk negara berkembang (Broght & Wyns, 2018). *World Health Organization* (WHO) melaporkan bahwa di negara-negara berkembang satu dari empat pasangan mengalami infertilitas (WHO, 2017). Sekitar 3% dari pasangan infertil akan mencari perawatan dengan teknologi reproduksi berbantu seperti teknologi produksi embrio *in vitro* yaitu fertilisasi *in vitro* (FIV) dengan tingkat keberhasilan 20% (Li-Hua *et al.*, 2019). Teknologi produksi embrio *in vitro* merupakan teknik reproduksi modern yang dimulai dengan maturasi *in vitro* (MIV) (Souza-Fabjan *et al.*, 2014).

Teknik MIV sangat penting untuk mendapatkan oosit matang berkualitas tinggi untuk meningkatkan keberhasilan produksi embrio *in vitro* dan dapat meningkatkan keberhasilan produksi embrio *in vitro* (Setyawan *et al.*, 2018). Kualitas dan kompetensi oosit dapat dilihat dari kriteria morfologis oosit kumulus kompleks (OKK) seperti jumlah dan kekompakan lapisan sel kumulus yang mengelilingi oosit (Tao *et al.*, 2016). Sel kumulus mempunyai peran penting dengan mentransfer nutrisi kepada oosit melalui *gap junction* menghasilkan piruvat, memetabolisme glukosa menghasilkan energi untuk mendukung pematangan embrio (Souza-Fabjan *et al.*, 2016), serta melindungi oosit dari kontaminan lingkungan (Moussa *et al.*, 2018).



Fungsi utama inkubator selama MIV adalah untuk menyediakan lingkungan yang stabil untuk mengoptimalkan fungsi dan pengembangan embrio secara *in vitro*. Untuk mencapai tujuan ini, inkubator harus mengatur beberapa variabel lingkungan, termasuk suhu. Oleh karena itu, inkubator harus dijaga pada suhu yang stabil, karena pada saat MIV akan mengalami variasi suhu (Cohen, 2019). Variasi suhu ini dapat berada di inkubator apapun. Beberapa penelitian menunjukkan antar *chamber* bukaan pintu dalam rutinitas laboratorium yang sering dibuka 5 detik dan 10 detik, ditemukan bahwa ada perbedaan yang signifikan dalam variasi suhu (Swain, 2014).

Dalam penelitian Paes *et al.* (2016), oosit yang terpapar suhu 41°C selama MIV dapat menghasilkan kondisi stress panas. Xinday *et al.* (2018) juga melaporkan bahwa OKK yang terpapar pada suhu 41°C selama MIV mengurangi ekspansi kumulus, mengurangi tingkat maturasi dan meningkatkan apoptosis. Paparan suhu tinggi 41°C selama MIV menyebabkan peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species / ROS*) sehingga menurunkan kompetensi perkembangan oosit (Nabenishi *et al.*, 2012).

Produksi ROS dan antioksidan apabila menunjukkan ketidakseimbangan, maka dapat menyebabkan stress oksidatif (Rocha-Frigoni *et al.*, 2016). Salah satu metode yang dapat mencegah stress oksidatif selama MIV yaitu dengan suplementasi antioksidan menggunakan bahan nanopartikel. Nanopartikel adalah partikel yang ukurannya terletak di area dimensi 1-1000 nm ( $10^{-9}$  m) (Agarwal *et al.*, 2017). Ukuran dan sifat permukaan nanopartikel untuk mengoptimalkan bioavailabilitas, meningkatkan stabilitas, dan mengurangi *off-target* karena dapat

menembus jaringan yang meradang atau rusak karena produksi ROS yang mungkin tidak dapat diakses oleh molekul yang lebih besar (Rizvi & Saleh, 2018).

Sintesis nanopartikel dengan ekstrak tanaman banyak dilakukan saat ini karena ramah lingkungan, aman untuk ditangani, mudah tersedia dan memiliki variabilitas metabolit yang luas (Rehana *et al.*, 2017). Daun Kelor, *Moringa oleifera* Lam. menurut penelitian Barakat *et al.* (2015), dapat meningkatkan tingkat maturasi oosit. Daun kelor kaya akan polifenol yang merupakan salah satu kelompok utama fitokimia yang terkenal dengan aktivitas antioksidannya (Ma *et al.*, 2019). Kapasitas antioksidan mereka dapat dikaitkan dengan mekanisme pembersihan ROS, di mana polifenol secara bebas mengurangi ROS, mencegah lebih banyak generasi ROS, dan kerusakan biomolekul (Sandoval-Acuña *et al.*, 2014).

ROS menyebabkan peroksidasi lipid dan menghasilkan malondialdehid (MDA). Kuantifikasi peroksidasi lipid sangat penting untuk menilai stres oksidatif dalam proses MIV. Suplementasi ini mencegah pembentukan peroksidasi lipid, dan kadar MDA sebagai marker stress oksidatif menurun (Yalçinkaya, 2013). ROS juga menyebabkan jalur molekul apoptosis intrinsik apoptosis aktif. Apoptosis dipicu oleh aktivitas caspase. Aktivasi mereka tergantung pada pembentukan kompleks apoptosom sitokrom C (Cyt C), *Apoptotic Protease-Activating Factor-1* (Apaf-1) dan pro caspase-9, yang mengarah ke aktivasi caspases "inisiator" caspase-9 (Jain *et al.*, 2016) (Widjiati *et al.*, 2010). Ketika apoptosis ini dihambat maka dapat meningkatkan efisiensi maturasi oosit (Sovernigo *et al.*, 2017).

Antioksidan menyebabkan p53 tidak aktif dan terjadi keseimbangan Bcl-2. Membran mitokondria menjadi tidak permeabel melepaskan Cyt C ke sitosol. Ini pada gilirannya menghasilkan inaktivasi pembelahan caspase-3 sebagai "efektor", algojo sebenarnya dari apoptosis, yang dapat proteolisis beberapa substrat yang mengarah pada kematian sel (Pérez-Garijo, 2018). Berdasarkan latar belakang tersebut bermaksud melakukan penelitian tentang pengaruh suplementasi nanopartikel daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap penurunan kadar MDA dan ekspresi caspase-3 pada tahap maturasi oosit secara *in vitro*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah suplementasi nanopartikel daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dapat menurunkan kadar MDA dalam tahap maturasi oosit secara *in vitro*?
2. Apakah suplementasi nanopartikel daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dapat menurunkan ekspresi caspase-3 dalam tahap maturasi oosit secara *in vitro*?

## 1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan, sebagai berikut:

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mempelajari pengaruh suplementasi nanopartikel daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap penurunan kadar MDA dan ekspresi caspase-3 dalam tahap maturasi oosit secara *in vitro*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan suplementasi nanopartikel daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap penurunan kadar MDA dalam tahap maturasi oosit secara *in vitro*.
2. Membuktikan suplementasi nanopartikel daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap penurunan ekspresi caspase-3 dalam tahap maturasi oosit secara *in vitro*.

### 1.4 Manfaat

Penelitian ini memiliki manfaat, sebagai berikut:

#### 1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi dan pengetahuan tentang manfaat suplementasi nanopartikel daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap penurunan kadar MDA, dan ekspresi caspase-3 dalam tahap maturasi oosit secara *in vitro*.

#### 1.4.2 Manfaat Praktis

Sebagai tambahan untuk melakukan metode uji lanjutan menggunakan suplementasi nanopartikel daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap penurunan kadar MDA dan ekspresi caspase-3 dalam tahap maturasi oosit secara *in vitro*.