

KARYA AKHIR

**PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP KADAR ATP SEL
KUMULUS, JUMLAH MITOKONDRIA DAN TINGKAT
MATURASI OOSIT PADA KOMPLEKS OOSIT-KUMULUS
PASCA OVULASI MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**



Oleh :

M. Y. Ardianta Widyanugraha

011829069302

**PROGRAM PENDIDIKAN SUBSPELIALIS OBSTETRI DAN
GINEKOLOGI
PEMINATAN FERTILITAS ENDOKRINOLOGI REPRODUKSI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

KARYA AKHIR

**PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP KADAR ATP SEL
KUMULUS, JUMLAH MITOKONDRIA DAN TINGKAT
MATURASI OOSIT PADA KOMPLEKS OOSIT-KUMULUS
PASCA OVULASI MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

Oleh :

M. Y. Ardianta Widyanugraha

011829069302

**PROGRAM PENDIDIKAN SUBSPELIALIS OBSTETRI DAN
GINEKOLOGI
PEMINATAN FERTILITAS ENDOKRINOLOGI REPRODUKSI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP KADAR ATP SEL
KUMULUS, JUMLAH MITOKONDRIA DAN TINGKAT MATURASI
OOSIT PADA KOMPLEKS OOSIT-KUMULUS PASCA OVULASI
MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

KARYA AKHIR

Untuk memenuhi syarat memperoleh Gelar Subspesialis Obstetri dan Ginekologi
Pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
dan sudah disajikan dalam ujian hasil karya akhir
Pada hari : Selasa
Tanggal : 23 Agustus 2022
Pukul : 10.00-12.00 WIB

Oleh :

M. Y. Ardianta Widyanugraha

011829069302

**PROGRAM PENDIDIKAN SUBSPESIALIS OBSTETRI DAN
GINEKOLOGI
PEMINATAN FERTILITAS ENDOKRINOLOGI REPRODUKSI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : M. Y. Ardianta Widyanugraha

NIM : 011829069302

Program Studi : Program Pendidikan Dokter Subspesialis Obstetri dan Ginekologi
Peminatan Kedokteran Fertilitas Endokrinologi Reproduksi

Judul : 'Pengaruh Endometriosis Terhadap Kadar ATP Sel Kumulus, Jumlah Mitokondria Dan Tingkat Maturasi Oosit Pada Kompleks Oosit-Kumulus Pasca Ovulasi Mencit Model Endometriosis'

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya akhir saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (plagiarism) dari karya orang lain. Karya akhir ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik. Karya akhir ini tidak terdapat pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan di dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, Agustus 2022



M. Y. Ardianta Widyanugraha dr., SpOG

HALAMAN PERSETUJUAN HASIL KARYA AKHIR

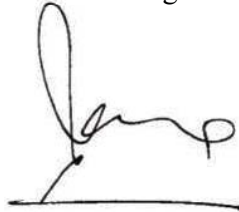
Dengan judul:

PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP KADAR ATP SEL KUMULUS, JUMLAH
MITOKONDRIA DAN TINGKAT MATURASI OOSIT PADA KOMPLEKS OOSIT-
KUMULUS PASCA OVULASI MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS

KARYA AKHIR INI TELAH DISETUJUI PADA TANGGAL 23
AGUSTUS 2022

Oleh :

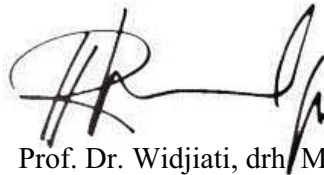
Pembimbing I



Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr., SpOG., Subsp. F.E.R.

NIP. 196108172016016101

Pembimbing II

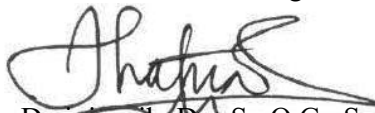


Prof. Dr. Widjiati, drh/MSi

NIP. 196209151990022001

Mengetahui

Koordinator Program Studi Subspesialis
Obstetri dan Ginekologi



Dr. Sri Ratna Dwimingsih, Dr., Sp.O.G. Subsp. F.E.R

NIP. 197308281999032002

HALAMAN PENETAPAN TIM PANITIA PENGUJI KARYA AKHIR

Karya Akhir ini diajukan oleh:

Nama : M. Y. Ardianta Widyanugraha

NIM : 011829069302

Program Studi : Subspesialis Obstetri dan Ginekologi

Peminatan : Peminatan Kedokteran Fertilitas Endokrinologi Reproduksi

Judul : Pengaruh Endometriosis Terhadap Kadar ATP Sel Kumulus, Jumlah Mitokondria Dan Tingkat Maturasi Oosit Pada Kompleks Oosit-Kumulus Pasca Ovulasi Mencit Model Endometriosis

Karya Akhir ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada 23 Agustus 2022

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SUBSPESIALIS OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
PEMINATAN FERTILITAS ENDOKRINOLOGI REPRODUKSI DEP/KSM OBSTETRI
DAN GINEKOLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN UNAIR-RSUD DR. SOETOMO
SURABAYA.

PANITIA PENGUJI TESIS :

Ketua: Prof. Samsulhadi, dr. Sp.O.G, (K)

Tanda Tangan
(.....)

Anggota:

1. Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr., Sp O.G(K)

(.....)

2. Prof. Dr. Widjiati, drh. Msi

(.....)

3. Relly Yanuari Primariawan, dr. SpOG(K)

(.....)

4. Dr. Ashon Sa'adi, dr. SpOG(K)

(.....)

5. Dr. H. Budi Utomo, dr. M.Kes

(.....)

6. Prof. Dr. dr. Nusratudin Abdullah, SpOG (K-FER), MARS

(.....)

Ditetapkan dengan Surat Keputusan

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Tentang Panitia Penguji Karya akhir

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah saya panjatkan kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan karuniaNya, sehingga saya dapat menyelesaikan laporan penelitian ini sebagai salah satu tugas akhir dalam Program Pendidikan Dokter Subspesialis Obsterti dan Ginekologi Peminatan Fertilitas Endokrinologi Reproduksi di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya dengan judul : “PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP KADAR ATP SEL KUMULUS, JUMLAH MITOKONDRIA DAN TINGKAT MATURASI OOSIT PADA KOMPLEKS OOSIT-KUMULUS PASCA OVULASI MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS”

Terimakasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi – tingginya saya haturkan kepada :

1. Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr., SpOG(K), staf pengajar dan guru besar pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan sekaligus sebagai pembimbing dalam penelitian ini atas segala nasehat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama mengikuti pendidikan konsultan.
2. Prof. Dr. Widjiati, drh. M.Si, staf pengajar dan guru besar pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga sebagai pembimbing dalam penelitian ini atas segala nasehat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama saya melaksanakan penelitian ini.
3. Prof. Dr. Budi Santoso, dr., SpOG(K), selaku Dekan FK Unair dan guru besar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, atas kesempatan dan segala nasehat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama mengikuti pendidikan spesialis.

4. Dr. Joni Wahyuhadi, dr., Sp. BS (K), selaku Direktur RSUD dr. Soetomo Surabaya atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti PPDS II FER di Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya
5. Dr. Brahmana Askandar, dr., SpOG(K), selaku ketua Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya atas segala nasehat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama mengikuti pendidikan spesialis.
6. Dr. Sri Ratna Dwiningsih, dr., SpOG(K), selaku Ketua Program Studi SP2 Obstetri dan Ginekologi dan staf pengajar Divisi Fertilitas, Endokrinologi dan Reproduksi Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSU Dr. Soetomo Surabaya, atas segala nasihat serta bimbingan selama saya mengikuti program pendidikan dokter spesialis.
7. Dr. Jimmy Yanuar Annas, dr., SpOG (K), selaku Ketua Divisi Fertilitas, Endokrinologi dan Reproduksi dan staf pengajar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, atas segala nasihat serta bimbingan selama saya mengikuti program pendidikan dokter spesialis.
8. Prof. H. Lila Dewata Azinar, dr., SpOG(K), guru besar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, atas segala nasehat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama mengikuti pendidikan spesialis.
9. Prof. Samsulhadi, dr., SpOG(K), guru besar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya / RSU Dr. Soetomo Surabaya, atas segala nasehat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama mengikuti pendidikan spesialis.

10. Prof. H. Soehartono DS, dr., SpOG(K), guru besar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, atas segala nasehat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama mengikuti pendidikan spesialis.
11. Relly Y. Primariawan, dr., SpOG(K), staf pengajar Divisi Fertilitas, Endokrinologi dan Reproduksi Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga – RSUD Dr. Soetomo Surabaya, atas segala nasihat serta bimbingan selama saya mengikuti program pendidikan dokter spesialis
12. Dr. Ashon Sa'adi, dr., SpOG(K), staf pengajar Divisi Fertilitas, Endokrinologi dan Reproduksi Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya, atas segala nasihat serta bimbingan selama saya mengikuti program pendidikan dokter spesialis.
13. Sejawat peserta PPDS II FER Achmad Reza, dr.SpOG, Teguh Wiyono, dr.SpOG, Ody Wijaya, dr.SpOG, Samrichard Rambulangi, dr.SpOG dan rekan – rekan lainnya PPDS II Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya
14. Selanjutnya doa yang tak pernah putus saya persembahkan kepada Ayahanda T. Sugiyanto dan Ibunda Suci Sumariani yang penuh kasih sayang telah membesarkan dan mewujudkan cita – cita ananda.
15. Kepada saudara – saudara saya tercinta Yovita Ardiani Widyaningtyas, Marcelia Dian Ratri Widhiasih, Marcellus Dhanang Widhianta atas doa, dorongan dan semangat yang diberikan dalam menjalani pendidikan.
16. Kepada istriku tercinta Wike Rhestika Tanjungsari dan anak – anakku tersayang Bunga Melati Cantik Widyanugraha, Azhara Viola Ayu Widyanugraha dan M. Zainal Fanani Widyanugraha yang selalu menjadi motivasi dan inspirasiku.

Saya menyadari sepenuhnya bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna, karena itu saya mengharapkan kritik dan saran yang akan sangat bermanfaat. Dan pada kesempatan ini pula, perkenankanlah saya menyampaikan permohonan maaf yang setulusnya atas segala tingkah laku dan sikap saya yang tidak berkenan selama mengikuti pendidikan konsultan ini. Semoga Allah Yang Maha Esa membalas segala budi baik yang telah diberikan kepada saya dan senantiasa melimpahkan rahmat dan karuniaNya kepada kita serta menjadikan ilmu yang kita peroleh menjadi ilmu yang bermanfaat bagi sesama.

Surabaya, 23 Agustus 2022

M. Y. Ardianta Widyanugraha

RINGKASAN

PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP KADAR ATP SEL KUMULUS, JUMLAH MITOKONDRIA DAN TINGKAT MATURASI OOSIT PADA KOMPLEKS OOSIT-KUMULUS PASCA OVULASI MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS

I. Latar Belakang

Pada endometriosis diketahui terjadi penurunan kualitas oosit. Hal ini diduga disebabkan oleh faktor inflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$ yang menyebabkan apoptosis sel - sel kumulus (Carlberg *et al.*, 2000). Oleh karena pada maturasi oosit, nutrisi yang penting seperti adenosin trifosfat (ATP) terutama diproduksi oleh sel – sel kumulus untuk disuplai ke oosit (Su *et al.*, 2008; Sugiura *et al.*, 2007), maka apoptosis pada sel kumulus diduga akan mengganggu fungsinya untuk mendukung pertumbuhan oosit yang akhirnya dapat menyebabkan gangguan maturasi pada oosit.

Proses maturasi oosit melibatkan maturasi inti dan sitoplasma. Maturasi sitoplasma meliputi peningkatan populasi dan redistribusi organel seperti mitokondria (Collado-Fernandez *et al.*, 2012). Mitokondria adalah salah satu organel terpenting dalam menentukan kualitas oosit dimana mitokondria mengatur potensi perkembangan oosit melalui banyak jalur seperti pembentukan ATP, regulasi Ca^{2+} , dan pemeliharaan *intracellular redox potential* (IRP). Untuk membelah, mitokondria memerlukan senyawa ATP yang diambil dari sitoplasma (Chiaratti *et al.*, 2018). Penurunan suplai ATP dari sel - sel kumulus diduga akan mempengaruhi jumlah populasi mitokondria pada oosit yang akhirnya menyebabkan gangguan maturasi pada oosit.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh endometriosis terhadap kadar ATP sel sel kumulus, jumlah mitokondria dan tingkat maturasi pada oosit. Mengingat penelitian pada manusia untuk mengetahui pengaruh endometriosis terhadap oosit terkendala etika, maka pada penelitian ini menggunakan oosit mencit sebagai model endometriosis.

II. Metode dan Bahan

Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit untuk model endometriosis. Terdapat 32 mencit yang terbagi dalam 2 kelompok, yaitu kelompok kontrol (P0) dan kelompok endometriosis (P1). Pada kelompok P1, kami membuat mencit model endometriosis dengan menurunkan kekebalan tubuhnya, kemudian menyuntikkan endometrium manusia secara intraperitoneal. Untuk merangsang pertumbuhan endometrium, diberikan suntikan estrogen. Empat belas hari setelah penyuntikan endometrium intraperitoneal, diharapkan sudah menjadi mencit model endometriosis. Pada kelompok kontrol, dilakukan penyuntikan placebo. Semua kelompok mencit kemudian dilakukan superovulasi dengan pemberian suntikan PMSG dan hCG serta dikawinkan dengan mencit jantan yang telah dilakukan vasektomi. Induksi birahi dengan mengawinkan dengan mencit jantan diperlukan untuk memicu terjadinya ovulasi pada mencit coba. 17 jam pasca suntikan hCG, semua mencit diterminasi untuk dikoleksi kompleks oosit-kumulus (KOK) dari kantong fertilisasi. Sel – sel kumulus dan oosit kemudian dipisahkan dengan bantuan enzim hyaluronidase. Sel sel kumulus yang didapat kemudian dilakukan pemeriksaan kadar ATP dengan tehnik Elisa. Pengukuran kadar ATP dengan menggunakan *Mouse Adenosine triphosphate ELISA Kit*, (Cat. No. E0665Mo, Bioassay Technology Laboratory) dan dilakukan dengan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 450 nm. Oosit yang didapat kemudian dilakukan pemeriksaan jumlah mitokondria menggunakan *confocal laser scanning microscope* (CLSM). Data yang diperoleh kemudian

diolah dengan menggunakan perangkat lunak khusus *OLYMPUS FLUOVIEW Ver.4.2a* di komputer. Tingkat maturasi oosit dievaluasi menggunakan mikroskop *inverted* dengan pembesaran 200x. Tanda pencapaian maturasi oosit ditentukan bila telah mencapai tahap Metafase II dengan *polar body I* telah dilepaskan.

III. Hasil

Dari 16 mencit kelompok P0 dan 16 mencit kelompok P1, semua mengalami ovulasi. Terdapat peningkatan signifikan kadar ATP pada sel – sel kumulus kelompok P1 dibandingkan kelompok P0 ($p < 0,05$) dengan nilai rerata pada kelompok endometriosis 30,15 ng/ml dan kelompok kontrol 25,84 ng/ml. Jumlah mitokondria oosit pada kelompok P1 meningkat bermakna dibandingkan kelompok P0 ($p < 0,05$) dengan nilai rerata pada kelompok endometriosis 406503,25 dan kelompok kontrol 208875. Tingkat maturasi oosit pada kelompok P0 lebih tinggi secara bermakna dibandingkan kelompok P1 dengan rerata pada kelompok kontrol 36,27 % dan kelompok endometriosis 19,91 % ($p < 0,05$).

Hasil uji korelasi antara kadar ATP sel kumulus dan jumlah mitokondria oosit menunjukkan adanya hubungan bermakna antara kadar ATP sel kumulus dengan jumlah mitokondria oosit ($p < 0,01$) dengan tingkat pengaruh kadar ATP sel kumulus terhadap jumlah mitokondria oosit sebesar 46 %. Uji korelasi antara kadar ATP sel kumulus dan tingkat maturasi oosit menunjukkan tidak adanya hubungan bermakna ($p > 0,01$). Demikian pula hasil uji korelasi antara jumlah mitokondria oosit dan tingkat maturasi oosit menunjukkan tidak adanya hubungan bermakna ($p > 0,01$). Meskipun kadar ATP sel kumulus maupun jumlah mitokondria oosit terhadap tingkat maturasi oosit menunjukkan tidak adanya hubungan bermakna, hasil kurva ROC menunjukkan jumlah mitokondria oosit ($AUC = 0.672$) cenderung lebih baik daripada kadar ATP sel kumulus ($AUC = 0.656$) dalam menentukan tingkat maturasi oosit.

IV. Pembahasan

Hasil penelitian kami menunjukkan bahwa kadar ATP pada kelompok endometriosis didapatkan peningkatan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Hal ini mungkin dikarenakan apoptosis yang terjadi pada sel – sel kumulus terjadi belum sempurna atau masih pada tahap awal dimana viabilitas sel - sel kumulus masih diatas 50% (Zamaraeva *et al.*, 2005).

Apoptosis adalah bentuk kematian sel yang membutuhkan energi. Rangsangan apoptosis seperti $TNF-\alpha$ menginduksi elevasi secara signifikan tingkat ATP sitoplasma. Peristiwa eksekusi dalam apoptosis, seperti aktivasi caspase dan fragmentasi DNA, terjadi dengan adanya kelebihan ATP sitoplasma. Dengan demikian, peningkatan ATP sitoplasma merupakan persyaratan mutlak untuk proses kematian sel secara apoptosis. Sinyal ATP dari populasi sel yang diinduksi terjadinya apoptosis kembali ke tingkat seperti kelompok kontrol ketika viabilitas sel tinggal 50%. Penurunan bertahap berikutnya dari sinyal ATP sitoplasma dikaitkan dengan peningkatan jumlah sel mati (Zamaraeva *et al.*, 2005).

Hasil penelitian kami juga mendapatkan jumlah mitokondria di dalam oosit pada kelompok endometriosis didapatkan jumlah yang lebih tinggi secara signifikan dibandingkan jumlah mitokondria pada kelompok kontrol ($p < 0,05$). Hal ini mungkin dikarenakan adanya peningkatan suplai kadar ATP dari sel – sel kumulus yang merangsang peningkatan jumlah mitokondria di dalam oosit selama proses oogenesis.

Proses penambahan jumlah mitokondria melibatkan DYNAMO1, yaitu molekul penting untuk pembelahan mitokondria dan sering disebut sebagai mesin pembelahan mitokondria (MD, *mitochondrial division*). DYNAMO1 menghasilkan GTP pada cincin mesin MD, berfungsi sebagai sumber energi yang diambil dari ATP sitoplasma untuk penyempitan mesin pembelahan mitokondria. Disini, sumber energi untuk penyempitan mesin MD didapatkan

secara lokal di sitoplasma sekitar lokasi pemotongan membran selama pembelahan mitokondria (Imoto *et al.*, 2018). Oleh karena itu, dengan adanya peningkatan kadar ATP di sel kumulus, maka oosit mendapatkan suplai energi yang lebih tinggi pula. DYNAMO1 mendapat suplai ATP yang sangat berlimpah dari sel - sel kumulus yang mungkin mendorong peningkatan replikasi mitokondria lebih banyak dari kontrol. Hal ini sesuai dengan uji korelasi yang mendapatkan hubungan bermakna antara peningkatan kadar ATP sel – sel kumulus dengan peningkatan jumlah mitokondria di dalam oosit ($p<0,01$).

Tingkat maturasi oosit pada kelompok endometriosis didapatkan lebih rendah secara signifikan dibandingkan tingkat maturasi oosit pada kelompok kontrol ($p<0,05$). Hal ini sangat kontradiktif dimana terjadi peningkatan jumlah mitokondria di dalam oosit. Dengan banyaknya mitokondria di dalam oosit endometriosis, seharusnya oosit mempunyai sumber daya yang sangat cukup dan mandiri untuk melanjutkan maturasinya setelah hubungannya dengan sel – sel kumulus rusak pasca lonjakan LH. Hal ini mungkin karena meskipun secara kuantitatif, jumlah mitokondria bertambah, secara kualitatif tidak. Hal ini didukung dengan uji korelasi dimana tidak didapatkan hubungan bermakna antara jumlah mitokondria oosit dengan tingkat maturasi oosit ($p>0,01$). Namun, tentunya perlu studi lebih lanjut untuk memastikan hal ini.

Kejadian ini dapat dijelaskan dengan efek samping peningkatan ATP di mitokondria. Seperti diketahui, proses fosforilasi oksidatif di mitokondria memberikan efek samping terbentuknya radikal bebas (Dumollard *et al.*, 2009; Van Blerkom, 2011; Zorov *et al.*, 2014). Endometriosis sendiri selain memicu apoptosis juga menyebabkan peningkatan ROS melalui disfungsi mitokondria sel – sel kumulus (Zhang *et al.*, 2017). ROS mitokondria dapat merusak DNA dengan menghasilkan berbagai kerusakan DNA seperti basa teroksidasi dan pemutusan rantai DNA (Maynard *et al.*, 2009) Dengan demikian, selain ATP, ROS yang terbentuk pada sel - sel kumulus juga meningkat dan ikut masuk disebarkan ke dalam oosit melalui TZPs. mtDNA diketahui sensitif terhadap adanya ROS ini, dan paparannya menyebabkan terjadinya kerusakan pada mtDNA.

Penjelasan lain yang mungkin adalah pada endometriosis terjadi peningkatan radikal bebas akibat kelebihan zat besi yang melebihi kapasitas penyimpanan makrofag (DeFrère *et al.*, 2008). Sesuai hipotesis dari Carlberg *et al.*, dimana komponen inflamasi dalam cairan peritoneum pada wanita dengan endometriosis dapat berdifusi ke dalam folikel ovarium (Carlberg *et al.*, 2000), radikal bebas ini akan berdifusi masuk kedalam folikel termasuk oosit sehingga menyebabkan mtDNA oosit terpapar dan menyebabkan kerusakan.

Penelitian ini juga melakukan uji korelasi terhadap kadar ATP dengan tingkat maturasi oosit dan tidak didapatkan hubungan yang bermakna antara keduanya. Hal ini sesuai dengan teori bahwa sel – sel granulosa mendukung maturasi oosit hingga sebelum terjadi lonjakan LH. Oosit melanjutkan proses maturasi setelah lonjakan LH secara mandiri menggunakan organel yang dimilikinya sendiri. Hal inipun juga didukung, meskipun tidak ada korelasi signifikan antara kadar ATP sel – sel kumulus ataupun jumlah mitokondria oosit dengan tingkat maturasi oosit, hasil kurva ROC kadar ATP sel kumulus atau jumlah mitokondria oosit terhadap tingkat maturasi oosit menunjukkan bahwa jumlah mitokondria oosit ($AUC=0.672$) cenderung lebih baik daripada kadar ATP sel kumulus ($AUC=0.656$) dalam menentukan tingkat maturasi oosit.

V. Kesimpulan

Didapatkan peningkatan kadar ATP sel kumulus maupun jumlah mitokondria oosit pada mencit model endometriosis dan penurunan tingkat maturasi mencit model endometriosis. Peningkatan kadar ATP sel kumulus selaras dengan peningkatan jumlah mitokondria oosit. Tidak terdapat hubungan bermakna antara kadar ATP sel kumulus maupun jumlah mitokondria terhadap tingkat maturasi oosit metaphase II (Pb1) walaupun jumlah mitokondria oosit cenderung lebih baik dalam menentukan tingkat maturasi oosit daripada kadar ATP sel kumulus.

**PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP KADAR ATP SEL KUMULUS,
JUMLAH MITOKONDRIA DAN TINGKAT MATURASI OOSIT PADA
KOMPLEKS OOSIT-KUMULUS PASCA OVULASI MENCIT MODEL
ENDOMETRIOSIS**

M.Y. Ardianta Widyanugraha, Widjiati, Hendy Hendarto

ABSTRAK

Latar Belakang : Endometriosis menyebabkan penurunan kualitas oosit akibat apoptosis sel kumulus namun mekanismenya belum dipahami.

Tujuan : Menganalisis pengaruh endometriosis terhadap kadar ATP sel kumulus, jumlah mitokondria dan tingkat maturasi oosit.

Desain Studi, Sampel, Tempat dan Waktu : penelitian *true experimental* dengan desain *post test only control group* pada hewan coba, bulan Maret - April 2022 di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya.

Materi dan Metode : 32 ekor mencit dibagi menjadi kelompok kontrol dan endometriosis. Kompleks oosit-kumulus (KOK) diperoleh dari semua kelompok. Sel kumulus diperiksa kadar ATP dengan tehnik Elisa, jumlah mitokondria dievaluasi dengan *confocal laser scanning microscope* dan tingkat maturasi oosit dengan mikroskop *inverted*.

Hasil : Kadar ATP sel kumulus dan jumlah mitokondria kelompok endometriosis meningkat bermakna dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$; $p < 0,05$) sedangkan tingkat maturasi oosit lebih rendah secara bermakna ($p < 0,05$). Didapatkan hubungan bermakna antara kadar ATP sel kumulus dengan jumlah mitokondria oosit ($p < 0,01$). Kadar ATP sel kumulus maupun jumlah mitokondria oosit tidak didapatkan hubungan bermakna dengan tingkat maturasi oosit ($p > 0,01$; $p > 0,01$). Kurva ROC menunjukkan jumlah mitokondria oosit ($AUC = 0.672$) cenderung lebih baik daripada kadar ATP sel kumulus ($AUC = 0.656$) dalam menentukan tingkat maturasi oosit.

Kesimpulan : Kadar ATP sel kumulus maupun jumlah mitokondria oosit meningkat sedangkan tingkat maturasi oosit turun pada mencit model endometriosis. Didapatkan korelasi antara peningkatan kadar ATP sel kumulus dengan peningkatan jumlah mitokondria oosit, namun tidak antara keduanya terhadap tingkat maturasi oosit.

Kata kunci : Endometriosis, ATP, sel kumulus, mitokondria, oosit.

DAFTAR ISI

Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Persyaratan Gelar	iii
Pernyataan	iv
Lembar persetujuan	v
Penetapan panitia penguji	vi
Ucapan terimakasih	vii
Ringkasan penelitian	xi
Abstrak	xiv
DAFTAR ISI	xvi
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Rumusan masalah	3
1.3 Tujuan penelitian	3
1.3.1 Tujuan umum	3
1.3.2 Tujuan khusus	3
1.4 Manfaat penelitian	4
1.4.1 Manfaat akademis	4
1.4.2 Manfaat klinis	4
BAB 2 TINJAUAN PUSATAKA	5
2.1 Endometriosis	5
2.1.1 Definisi dan epidemiologi	5
2.1.2 Patogenesis	6
2.1.3 Gejala klinis	9
2.1.4 Diagnosis	10
2.2 Endometriosis Dan Reaksi Inflamasi	13
2.3 Endometriosis Dan Infertilitas	16
2.3.1 Infertilitas terkait endometriosis	17
2.3.2 Folikulogenesis terkait endometriosis	20
2.3.3 Fertilisasi terkait endometriosis	21
2.3.4 Fungsi sperma terkait endometriosis	23
2.3.5 Transpor tuba terkait endometriosis	23
2.3.6 Perkembangan embrio dan implantasi terkait endometriosis	23
2.4 Endometriosis Dan Pengaruhnya Terhadap Sel - Sel Kumulus Dan Oosit	24
2.4.1 Perkembangan sel kumulus dan oosit	24
2.4.2 Pengaruh endometriosis terhadap sel sel kumulus dan oosit	27
2.5 Mitokondria Oosit	29
2.5.1 Mitokondria dalam kematangan oosit	29
2.5.2 Karakteristik mitokondria oosit	32
2.5.3 Dinamika jumlah mitokondria	34
2.5.4 Mekanisme fisi mitokondria	41
2.5.5 Biogenesis mitokondria	43
2.6 <i>MitoTracker green</i>	46
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	48

BAB 4 METODE PENELITIAN	51
BAB 5 HASIL PENELITIAN	65
BAB 6 PEMBAHASAN	74
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	87
DAFTAR PUSTAKA	88
LAMPIRAN	99

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Berbagai teori patogenesis endometriosis	8
Tabel 4.1 Definisi operasional	54
Tabel 5.1 Uji normalitas Kolmogorov-Smirnov	68
Tabel 5.2 Kadar ATP mencit pada tiap kelompok.	69
Tabel 5.3 Jumlah mitokondria mencit pada tiap kelompok	70
Tabel 5.4 Tingkat kematangan oosit	71
Tabel 5.5 Pengaruh kadar ATP sel kumulus terhadap jumlah mitokondria oosit	71
Tabel 5.6 Pengaruh jumlah mitokondria oosit terhadap tingkat kematangan oosit	72
Tabel 5.7 Pengaruh kadar ATP sel kumulus terhadap tingkat kematangan oosit	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur panggul dimana endometriosis sering berkembang	6
Gambar 2.2	Patogenesis endometriosis.	7
Gambar 2.3	Revisi sistem klasifikasi endometriosis oleh ASRM	12
Gambar 2.4	Patomekanisme infertilitas pada endometriosis	18
Gambar 2.5	Fertilisasi oosit dengan 2pn dan 2 <i>polar body</i>	22
Gambar 2.6	Siklus mitokondria selama folikulogenesis	26
Gambar 2.7	Diagram morfodinamika mitokondria pada oosit dan embrio manusia	31
Gambar 2.8	Perkiraan skala log jumlah mitokondria per sel germinal melalui oogenesis dan folikulogenesis manusia.	35
Gambar 2.9	Sel germinal primordial manusia.	36
Gambar 2.10	Oosit primer manusia fase- <i>pachytene</i>	38
Gambar 2.11	Akumulasi mitokondria plasma nutfah	39
Gambar 2.12	Model kerja fungsi DYNAMO1 selama pembelahan mitokondria dan peroksisom	42
Gambar 2.13	Biogenesis mitokondria selama oogenesis, folikulogenesis dan perkembangan awal embrio	44
Gambar 3.1	Kerangka konseptual dan hipotesis penelitian	48
Gambar 4.1	Rancangan penelitian	50
Gambar 6.1	Kerangka operasional	63
Gambar 5.1	Endometriosis peritoneum pada kelompok P1 yang determinasi	65
Gambar 5.2	Vaginal plug pada mencit	66
Gambar 5.3	Kelompok oosit-kumulus mencit	67
Gambar 5.4	Mitokondria pada pemeriksaan dengan CLSM	69
Gambar 5.5	Oosit matur pada pemeriksaan dengan mikroskop <i>inverted</i>	70
Gambar 5.6	Kurva ROC kadar ATP dan jumlah mitokondria terhadap tingkat kematangan oosit	73

DAFTAR SINGKATAN

AFS	: <i>American Fertility Society</i>
ARA	: <i>Advance Reproductive Age</i>
ASRM	: <i>American Society for Reproductive Medicine</i>
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
BMP15	: <i>Bone morphogenetic protein 15</i>
BSA	: <i>Bovine Serum Albumin</i>
CC	: <i>Cumulus cells</i>
CE	: <i>capillary electrophoresis</i>
CGCs	: <i>cumulus granulosa cell</i>
CLSM	: <i>confocal laser scanning microscope</i>
COX	: <i>cytochrome c oxydase</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
Dnm2	: <i>Dynamin-2</i>
DOR	: <i>Diminished ovarian reserve</i>
Drp1	: <i>dynamin-related protein 1</i>
DYNAMO	: <i>dynamin-based ring motive-force organizer</i>
ER	: <i>endoplasmic reticulum</i>
FAD	: <i>Flavin adenine dinucleotide</i>
FGF8B	: <i>Fibroblast Growth Factor 8b</i>
GDF-9	: <i>Growth Differentiation Factor-9</i>
GSH	: <i>glutathione</i>
GTP	: <i>Guanosine-5'-triphosphate</i>
GV	: <i>germinal vesicle</i>
GVBD	: <i>germinal vesicle breakdown</i>
hCG	: <i>Human Chorionic Gonadotropin</i>
ICSI	: <i>Intracytoplasmic Sperm Injection</i>
IGF	: <i>Insulin-like growth factor</i>
IKK	: <i>IκB Kinase</i>
IKKK	: <i>IκB kinase kinase</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
INF2	: <i>Inverted Formin 2</i>
IRP	: <i>Intracellular redox potential</i>
IMM	: <i>inner membrane mitochondria</i>
IVF	: <i>in vitro Fertilization</i>
IVG	: <i>in vitro growth</i>
KOK	: <i>kompleks oosit-kumulus</i>
LH	: <i>Luteinizing hormone</i>
MII	: <i>Metafase II</i>
MCP-1	: <i>monocytes chemotactic protein-1</i>
MCSF	: <i>macrophage colony stimulating factor</i>
MD	: <i>Mitochondrial Division</i>
MFF	: <i>mitochondrial fission factor</i>
MFR	: <i>Monthly Fecundity Rate</i>
MiD	: <i>mitochondrial dynamics proteins</i>
mRNA	: <i>Messenger RNA</i>
MRI	: <i>Magnetic Resonance Imaging</i>
M-SER	: <i>Mitochondria-Smooth reticulum endoplasmic</i>
mtDNA	: <i>Mitochondrial DNA</i>

mTFA	: <i>mitochondrial transcription factor A</i>
MTG	: <i>MitoTracker Green</i>
MV	: <i>mitokondria-vesikel</i>
NADH	: <i>nikotinamida adenin dinukleotida</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa B</i>
NOR	: <i>Normal ovarian reserve</i>
NRF1	: <i>Nuclear Respiratory Factor 1</i>
OMM	: <i>Outer membrane mitochondria</i>
OXPHOS	: <i>Oxydative Phosphorilation</i>
PB1	: <i>Polar Body 1</i>
PBS	: <i>phosphate buffered saline</i>
PCM	: <i>pericentriolar materials</i>
PDH	: <i>Pyruvate dehydrogenase</i>
PGC	: <i>Primordial germ cell</i>
PGC-1	: <i>Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha</i>
PID	: <i>pelvic inflammatory disease</i>
PMSG	: <i>Pregnant Mare Serum Gonadotropin</i>
rAFS	: <i>revised American Fertility Society</i>
RANTES	: <i>Regulated upon Activation, Normal T Cell Expressed and Presumably Secreted</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SER	: <i>Smooth reticulum endoplasmic</i>
TFF	: <i>Total Fertilization Failure</i>
TGF β	: <i>transforming growth factor β</i>
TMRE	: <i>tetramethylrhodamine ethyl ester</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-α</i>
TZPs	: <i>Transzonal Projections</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
VEGF	: <i>Vascular endothelial growth factor</i>