

KARYA AKHIR

**DISBIOSIS USUS AKIBAT DIET TINGGI *CHOLIC ACID*
TINGGI SUKROSA SEBAGAI PEMICU GAMBARAN
SINDROMA OVARIUM POLIKISTIK**

(Studi Eksperimental Pada Tikus *Rattus norvegicus*)



Oleh :

I Made Putra Juliawan, dr.,Sp.OG
NIM. 011729069301

Pembimbing :

Dr. Jimmy Yanuar Annas, dr., Sp.OG (K)
Prof. Dr. Widjiati, drh., Msi

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SUBSPESIALIS
OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
PEMINATAN KEDOKTERAN FERTILITAS, ENDOKRIN, REPRODUKSI
DEP/KSM OBSTETRI DAN GINEKOLOGI/
FAKULTAS KEDOKTERAN UNAIR-RSUD DR. SOETOMO
SURABAYA
2022**

KARYA AKHIR

**DISBIOSIS USUS AKIBAT DIET TINGGI *CHOLIC ACID*
TINGGI SUKROSA SEBAGAI PEMICU GAMBARAN
SINDROMA OVARIUM POLIKISTIK**

(Studi Eksperimental Pada Tikus *Rattus norvegicus*)

Oleh :

I Made Putra Juliawan, dr.,Sp.OG

NIM. 011729069301

Pembimbing :

Dr. Jimmy Yanuar Annas, dr., Sp.OG (K)

Prof. Dr. Widjiati, drh., Msi

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SUBSPESIALIS
OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
PEMINATAN KEDOKTERAN FERTILITAS, ENDOKRIN, REPRODUKSI
DEP/KSM OBSTETRI DAN GINEKOLOGI/
FAKULTAS KEDOKTERAN UNAIR-RSUD DR. SOETOMO
SURABAYA
2022**

LEMBAR PRASYARAT GELAR

**DISBIOSIS USUS AKIBAT DIET TINGGI *CHOLIC ACID*
TINGGI SUKROSA SEBAGAI PEMICU GAMBARAN
SINDROMA OVARIUM POLIKISTIK**

(Studi Eksperimental Pada Tikus *Rattus norvegicus*)

KARYA AKHIR

Memenuhi Syarat Memperoleh Gelar Subspesialis
dalam Program Pendidikan Dokter Subspesialis Obstetri dan Ginekologi
Peminatan Kedokteran Fertilitas, Endokrin, Reproduksi
DEP/KSM Obstetri dan Ginekologi/
Fakultas Kedokteran UNAIR-RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Oleh :

I Made Putra Juliawan, dr.,Sp.OG

NIM. 011729069301

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SUBSPESIALIS
OBSTETRI DAN GINEKOLOGI
PEMINATAN KEDOKTERAN FERTILITAS, ENDOKRIN, REPRODUKSI
DEP/KSM OBSTETRI DAN GINEKOLOGI/
FAKULTAS KEDOKTERAN UNAIR-RSUD DR. SOETOMO
SURABAYA
2022**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam tesis berjudul Disbiosis Usus Akibat Diet Tinggi *Cholic Acid* Tinggi Sukrosa Sebagai Pemicu Gambaran Sindroma Ovarium Polikistik, Studi Eksperimental Pada Tikus *Rattus Norvegicus*, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar magister/konsultan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 25 Februari 2022



I Made Putra Juliawan
NIM. 011729069301

LEMBAR PERSETUJUAN HASIL PENELITIAN

JUDUL : Disbiosis Usus Akibat Diet Tinggi *Cholic Acid* Tinggi Sukrosa
Sebagai Pemicu Gambaran Sindroma Ovarium Polikistik
(Studi eksperimental pada tikus *Rattus norvegicus*)

NAMA : I Made Putra Juliawan

PROGRAM : Pendidikan SP2 Obstetri dan Ginekologi Keminatan Fertilitas
Endokrinologi dan Reproduksi

FAKULTAS : Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya

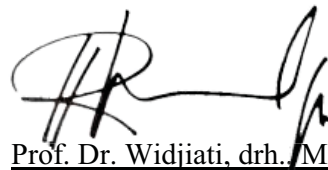
Surabaya, 25 Februari 2022

Menyetujui

Pembimbing I


Dr. Jimmy Yanuar Annas, dr., SpOG (K)
NIP. 197701202008011009

Pembimbing II


Prof. Dr. Widjiati, drh./Msi
NIP. 196209151990022001

Mengetahui

KPS Prodi Subspesialis Obstetri dan Ginekologi


Dr. Sri Ratna Dwiningsih, dr., SpOG., Subsp. F.E.R
NIP. 1973082819990320002

PENETAPAN PANITIA PENGUJI KARYA AKHIR

Karya akhir diajukan oleh:

Nama : I Made Putra Juliawan, dr.,Sp.OG

NIM : 011729069301

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

Judul : Disbiosis Usus Akibat Diet Tinggi *Cholic Acid* Tinggi Sukrosa
Sebagai Pemicu Gambaran Sindroma Ovarium Polikistik
(Studi Eksperimental Pada Tikus *Rattus norvegicus*)

Karya akhir ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada :

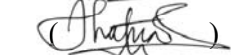
Tanggal : 25 Februari 2022

Pukul : 11.00-13.00 WIB

Panitia penguji :

1. Ketua sidang : Prof. Samsulhadi, dr., SpOG(K)
2. Pembimbing I : Dr. Jimmy Yanuar Annas, dr., SpOG(K)
3. Pembimbing II: Prof. Dr. Widjiati, drh., Msi
4. Penguji : Putu Doster Mahayasa, dr., SpOG(K)
5. Penguji : Dr. H. Budi Utomo, dr., M.Kes
6. Penguji : Dr. Sri Ratna Dwiningsih, dr., SpOG(K)

Tanda Tangan

()
()
()
()
()
()

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan laporan penelitian dengan judul “**DISBIOSIS USUS AKIBAT DIET TINGGI *CHOLIC ACID* TINGGI SUKROSA SEBAGAI PEMICU GAMBARAN SINDROMA OVARIUM POLIKISTIK**”. Penelitian ini merupakan salah satu tugas akhir dalam menempuh Program Pendidikan Dokter Spesialis II Fertilitas Endokrinologi Reproduksi Departemen/SMF Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

Pada kesempatan ini, perkenankan saya menyampaikan ucapan terima kasih serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Dekan FK Unair dan Direktur RSU Dr. Soetomo Surabaya atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti PPDS II FER di Departemen/SMF Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
2. Dr. Brahmana Askandar, dr., SpOG(K) sebagai Ketua Departemen/SMF Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas selama pendidikan ini.
3. Dr. Jimmy Yanuar Annas, dr., SpOG(K), selaku ketua Divisi FER Departemen/SMF Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang sekaligus merupakan pembimbing I pada penelitian ini yang telah banyak memberikan dukungan,

motivasi, inspirasi dan membuka wawasan saya atas dukungan dan fasilitas selama pendidikan ini.

4. Dr. Sri Ratna Dwiningsih, dr., SpOG(K), selaku KPS SP2 Obgin Departemen/SMF Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya atas dukungan dan fasilitas selama pendidikan ini.
5. Prof. Dr. Widjiati, drh., Msi, selaku pembimbing penelitian II yang telah memberi bimbingan, dorongan, masukan dan membuka wawasan dalam penelitian ini utamanya dalam teknis pelaksanaan penelitian ini.
6. Para Guru Besar dan staf pengajar di divisi FER Departemen/SMF Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya, yang telah menginspirasi, mendidik, membimbing dan memberikan bekal ilmu dan keterampilan selama pendidikan.
7. Sejawat peserta PPDS II FER dan seluruh paramedis maupun non paramedis Departemen/SMF Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo atas segala bantuan dan kerjasamanya selama saya mengikuti program pendidikan dokter spesialis.
8. Kedua Orang tua kami I Nyoman Tjakra dan alm. Ni Made Radji yang selalu mendukung, membanggakan dan memberikan doa dan dorongan semangat.
9. Istri tercinta Ni Ketut Mirawati, SE serta kedua buah hati tersayang I Gede Aditya Satrya Bhuwana Cakra dan Made Bagus Harry Danendra Prawira Cakra yang senantiasa menjadi sumber inspirasi dan pendorong semangat selama pendidikan ini.

10. Semua pihak yang namanya tidak dapat saya sebutkan satu persatu untuk segala dukungannya baik secara langsung maupun tidak langsung, terimakasih atas bantuan moril dan materil, semoga budi baiknya berbuah pahala kelak di kemudian hari.

Kami menyadari sepenuhnya bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna, karenanya kami mengharap kritik dan saran untuk kesempurnaan penelitian ini. Akhirnya, perkenankan kami menyampaikan permohonan maaf yang sebesar- besarnya atas segala tingkah laku dan sikap kami yang kurang berkenan selama menempuh pendidikan dokter spesialis ini. Semoga Tuhan senantiasa membalas segala budi baik yang telah diberikan kepada kami dan menjadikan ilmu yang kami peroleh menjadi ilmu yang bermanfaat bagi sekitar.

Surabaya, 25 Februari 2022

I Made Putra Juliawan

RINGKASAN

DISBIOSIS USUS AKIBAT DIET TINGGI *CHOLIC ACID* TINGGI SUKROSA SEBAGAI PEMICU GAMBARAN SINDROMA OVARIUM POLIKISTIK

(Studi Eksperimental Pada Tikus *Rattus norvegicus*)

I. Latar Belakang

Sindroma ovarium polikistik (SOPK), yang didefinisikan sebagai sindroma yang ditandai dengan adanya gangguan ovulasi, hiperandrogenemia dan gambaran ovarium polikistik merupakan gangguan endokrin tersering pada Wanita usia reproduksi (Franks, 2003; Tabassum et al., 2021; Williams, Mortada & Porter, 2016). Prevalensi SOPK di seluruh dunia berkisar 1,6 – 4%, tapi bisa lebih tinggi sampai 18 – 20% kompleksitas kriteria diagnostik dan fenotipe (deswal et al., 2020; Liu et al., 2021; Wolf et al., 2018). Tanda-tanda klinis yang didapatkan tidak hanya terbatas pada anovulasi, hiperandrogenemia dan gambaran ovarium polikistik saja, akan tetapi juga resistensi insulin dan perubahan komposisi mikrobiota usus (Giampaolino et al., 2021). Diet diduga faktor risiko yang penting sebagai pemicu SOPK. Di sisi lain, diet merupakan kunci yang bisa memodifikasi komposisi dan keseimbangan mikrobiota usus, yang pada akhirnya berperan pada timbulnya SOPK (Leeming et al., 2019). Bukti ini menunjukkan diet dapat baik secara langsung maupun tidak langsung memicu SOPK melalui disbiosis usus. Walau sudah ada banyak bukti hubungan asupan tinggi sukrosa dengan SOPK, masih sedikit yang diketahui tentang efek kombinasi diet tinggi sukrosa tinggi *cholic acid*. *Cholic acid*, yang merupakan suatu asam empedu larut air, diduga mempunyai hubungan dengan SOPK. Seperti yang didapatkan pada penelitian Zhang et al. (2019) di mana terdapat hubungan positif antara hiperandrogenemia dan kadar asam empedu primer terkonjugasi. Maka, pada penelitian ini bertujuan mengetahui dampak dari diet tinggi sukrosa dan *cholic acid* terhadap komposisi Enterobacteriaceae (kelas dari filum Proteobacteria sebagai penanda disbiosis usus), resistensi insulin, kadar testosteron dan gambaran histologis ovarium tikus *Rattus Norvegicus*.

II. Metoda dan Bahan

Sebanyak 40 ekor tikus *Rattus Norvegicus* (RN) berumur sekitar 3 bulan dibagi ke dalam 2 kelompok, 20 ekor ke dalam kelompok perlakuan yang mendapat diet tinggi sukrosa (32% kalori) tinggi *cholic acid* (40% kalori) (TCAS) dengan cara disonde dan kelompok kontrol yang mendapat pakan standar selama 4 minggu. Sebelum mulai penelitian, semua tikus ditimbang berat badan dan dilakukan swab vagina untuk memastikan status siklus estrusnya. Di akhir penelitian, sebelum dikorbankan semua tikus ditimbang kembali dan swab vagina. Komposisi Enterobacteriaceae diambil dari sampel usus tikus dengan pembiakan agar McConkey, nilai HOMA-IR dihitung dari pemeriksaan insulin dan glukosa darah puasa, kadar testosteron serum diperiksa dengan *rat/mouse ELISA testosterone kit* dan pemeriksaan histologis dari salah satu ovarium untuk menghitung jumlah folikel tersier, folikel de Graaf dan korpus luteum.

III. Hasil

Dari analisis deskriptif, tidak didapatkan perbedaan bermakna berat badan sebelum, sesudah dan perubahan berat badan antara kedua kelompok. Komposisi Enterobacteriaceae lebih rendah secara bermakna pada kelompok P1 (median : $2,47 \times 10^4/\text{CFU}$ v $4,75 \times 10^5/\text{CFU}$), nilai HOMA-IR lebih tinggi bermakna pada kelompok P1 (rerata : $4,92 \pm 2,94$), kadar testosteron lebih tinggi pada kelompok P1 (median : $3,00 \text{ ng/mL}$ v $0,65 \text{ ng/mL}$) dan dari pemeriksaan histologis didapatkan jumlah folikel de Graaf lebih rendah secara bermakna pada kelompok P1 ($0,0 \pm 0,5$) tapi tidak berbeda bermakna pada jumlah folikel tersier dan korpus luteum. Dari uji korelasi Pearson didapatkan hubungan positif antara nilai HOMA-IR dengan kadar testosteron ($0,700$), hubungan negatif antara nilai HOMA-IR, testosteron dengan jumlah folikel de Graaf ($-0,487$ dan $-0,334$) tapi tidak terdapat hubungan dengan jumlah folikel tersier dan korpus luteum. Tidak terdapat hubungan antara komposisi Enterobacteriaceae (disbiosis usus) dengan jumlah folikel tersier, folikel de Graaf maupun korpus luteum.

IV. Pembahasan

Berbeda dengan data-data penelitian sebelumnya, komposisi Enterobacteriaceae pada kelompok diet tinggi *cholic acid* tinggi sukrosa lebih rendah dibandingkan diet normal. Nilai HOMA-IR dan kadar testosteron lebih tinggi pada kelompok diet tinggi *cholic acid* tinggi sukrosa. Baik nilai HOMA-IR dan kadar testosteron mempunyai hubungan negatif dengan jumlah folikel de Graaf, sedangkan komposisi Enterobacteriaceae (disbiosis usus) tidak mempunyai hubungan. Pengaruh terbesar diet tinggi *cholic acid* tinggi sukrosa pada folikulogenesis adalah terhadap jumlah folikel de Graaf (24%).

V. Kesimpulan

Nilai HOMA-IR dan kadar testosteron lebih tinggi, jumlah folikel de Graaf lebih rendah pada kelompok TCAS dibanding kontrol. Diet TCAS tidak berpengaruh terhadap disbiosis usus, berpengaruh positif pada nilai HOMA-IR dan kadar testosteron dan berpengaruh negatif pada jumlah folikel de Graaf.

VI. Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut pada binatang coba untuk meneliti perbandingan kadar LPS pada kelompok diet tinggi lemak tinggi gula, penelitian pada manusia untuk meneliti profil mikrobiota mulut dan feses serta membandingkan dengan angka kejadian SOPK pada kelompok diet tinggi lemak tinggi gula (wanita perkotaan) dengan kelompok diet rendah gula tinggi serat (wanita pedesaan).

SUMMARY

GUT MICROBIOTA DYSBIOSIS DUE TO HIGH CHOLIC ACID HIGH SUCROSE DIET INDUCED POLYCYSTIC OVARIAN SYNDROME FEATURES

(Experimental Animal Study In *Rattus norvegicus*)

I. Background

Polycystic ovary syndrome (PCOS), described as the presence of polycystic ovaries, ovulatory impairment, and hyperandrogenism, is one of the most common hormonal disorders in productive females, and leads to a decrease in woman health-related quality of life (Franks, 2003; Tabassum et al., 2021; Williams, Mortada & Porter 2016). The worldwide prevalence of PCOS accounts 1.6-4% among reproductive age, but the estimate becomes increasing approximately 18-20% due to the complexity of diagnostic criteria and phenotypes (Deswal et al. 2020; Liu et al. 2021; Wolf et al. 2018). The clinical signs are not limited to only anovulation, polycystic ovarian, and an increasing level of testosterone, but also present an increase in insulin resistance and an alteration of gut microbiota composition (Giampaolino et al. 2021). Dietary intake is considered to be a critical predisposing factor to induce PCOS. In addition, diet is a key factor that can modify the composition and stability of the enteric microbiota, which could eventually contributes to the development of PCOS (Leeming et al. 2019). This evidence indicates that diet can either indirectly or directly induce PCOS by triggering gut microbiota dysbiosis. Despite a clear association between high-sucrose intake and PCOS, less is known about the effect of a combination of high-sucrose and high-cholic acid (HSCA) dietary intake. Cholic acid, a primary water-insoluble bile acid, is thought to have a link with PCOS. In a case-control study, Zhang et al. (2019) presented that there was a positive correlation between hyperandrogenism and conjugated primary bile acid levels. Thus, the aim of the present in-vivo study was to evaluate the impact of HSCA diet on enterobacterial colonies (Enterobacteriaceae, class of Proteobacteriaceae as the marker of gut microbiota dysbiosis), insulin sensitivity, testosterone level and histological parameters in female *Rattus norvegicus* ovaries.

II. Methods and Materials

Forty female *Rattus Norvegicus* aged around 3 months divided in to two groups, 20 rats to the experimental group (HSCA group) given high sucrose food (32% of the calories) and cholic acid via gastric tube (40% of the calories) and 20 rats to the control group given standard rat food for 4 weeks. Both group were given drinking water ad libitum. Before treatments, all rats are weighed and determined their estrous cycle status via vaginal swab. In the end of the study, all rats are weighed and checked again for vaginal swab. Enterobacteriaceae composition obtained from gut sample are cultured with McConkey agar, HOMA-IR value from fasting blood insulin and glucose level, serum total testosterone level with rat-ELISA testosterone and ovarian tissue from one of the ovarium for histological parameters to determined the numbers of tertiary follicle, de Graafian follicle and corpus luteum.

III. Results

From the descriptive analysis, there are no significant differences from the bodyweight changes between the 2 groups. Enterobacteriaceae compositions are significantly lower in the HSCA group (median : $2,47 \times 10^4/\text{CFU}$ v $4,75 \times 10^5/\text{CFU}$), HOMA-IR values are significantly higher in the HSCA group (mean : $4,92 \pm 2,94$), testosterone levels are significantly higher in the HSCA group (median : $3,00 \text{ ng/mL}$ v $0,65 \text{ ng/mL}$) and from the histological findings the numbers of de Graafian follicle are significantly lower in the HSCA group (median : $0,0 \pm 0,5$) and no difference in the numbers of the tertiary follicle and corpus luteum. From the Pearson correlation analysis, there is positive correlation between HOMA-IR value and testosterone level ($0,700$), there are negative correlations between HOMA-IR value ($-0,487$) and testosterone level ($-0,334$) with the de Graafian follicle numbers but not with the tertiary follicle and corpus luteum numbers. There is no correlation between Enterobacteriaceae composition with HOMA-IR value, testosterone level and histological parameters.

IV. Discussions

Contrary from previous studies, HSCA diet lower the numbers of Enterobacteriaceae obtained from gut sample in this study. HOMA-IR value and total serum testosterone level are both higher in HSCA group. Both HOMA-IR and testosterone level have a negative effect on folliculogenesis (de Graafian follicle numbers), while Enterobacteriaceae compositions (gut microbiota dysbiosis) has none. Strongest effect from HSCA diet to folliculogenesis is to the de Graafian follicle numbers.

V. Conclusions

HOMA-IR value and testosterone level are higher, but de Graafian follicle count is lower in HSCA diet group.. HSCA diet has no effect on Enterobacteriaceae composition (gut microbiota dysbiosis), positive effect on HOMA-IR value and testosterone level and negative effect on de Graafian Follicles count.

VI. Suggestions

Further study need to be done in animal for LPS level and human study to compare and analyze mouth and fecal microbiota profile with the PCOS incidence between group of women with high fat high sugar diet (urban) and group of women with low sugar high fiber diet (rural).

ABSTRAK

Latar Belakang : SOPK merupakan kelainan endokrin tersering pada wanita usia reproduktif dimana gaya hidup dan diet memegang peranan penting. Diet tinggi lemak dan tinggi gula mempengaruhi keseimbangan mikrobiota usus dan dipercaya berperan terhadap patogenesis SOPK.

Tujuan : Untuk menganalisis peran diet tinggi *cholic acid* tinggi sukrosa (TCAS) terhadap patogenesis SOPK melalui terjadinya disbiosis usus, peningkatan nilai HOMA-IR, hiperandrogenemia dan gangguan folikulogenesis.

Desain Studi, Sampel, Tempat dan Waktu : *Randomized post test only control group design*, dengan sampel tikus *Rattus Norvegicus* betina sebanyak masing-masing 20 ekor tikus untuk kelompok kontrol dan perlakuan, selama 4 minggu dari bulan agustus sampai September 2021 di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

Materi dan Metode : 40 ekor tikus dibagi menjadi dua kelompok yaitu perlakuan yang mendapat pakan tinggi sukrosa dan *cholic acid* dengan disonde dan kelompok kontrol yang mendapat pakan standar selama 4 minggu. Di akhir penelitian diperiksa komposisi enterobacteriaceae usus dengan kultur agar McConkey, kadar insulin dan glukosa puasa untuk nilai HOMA-IR, kadar testosteron total darah dan pemeriksaan histologi untuk folikel tersier, de Graaf dan korpus luteum salah satu ovarium.

Hasil : Nilai median komposisi Enterobacteriaceae kelompok perlakuan ($2,47 \times 10^3$ /CFU) lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok kontrol ($4,75 \times 10^5$ /CFU), nilai rata-rata HOMA-IR kelompok perlakuan (4,92) lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok kontrol (2,96), nilai median kadar testosteron total kelompok perlakuan (3,00 ng/mL) lebih tinggi secara bermakna dibanding kelompok kontrol (0,65 ng/mL), rata-rata jumlah folikel tersier kelompok perlakuan (1,68) tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol (1,48), median jumlah folikel de Graaf kelompok perlakuan (0,00) lebih rendah secara bermakna dibanding kelompok kontrol (0,5) dan rata-rata jumlah korpus luteum kelompok perlakuan (8,66) tidak berbeda bermakna dibanding kelompok kontrol (8,46). Disbiosis usus tidak berpengaruh terhadap folikulogenesis, nilai HOMA-IR berpengaruh negatif terhadap folikulogenesis, kadar testosteron berpengaruh negatif terhadap folikulogenesis. Pengaruh diet tinggi *cholic acid* tinggi sukrosa terhadap folikulogenesis paling besar terhadap jumlah folikel de Graaf (24%).

Kesimpulan : Nilai HOMA-IR dan kadar testosteron total lebih tinggi, jumlah folikel de Graaf lebih rendah pada kelompok TCAS dibanding kontrol. Diet TCAS tidak berpengaruh terhadap disbiosis usus, berpengaruh positif pada nilai HOMA-IR dan kadar testosteron dan berpengaruh negatif pada jumlah folikel de Graaf.

Kata Kunci : Diet Tinggi *Cholic Acid* Tinggi Sukrosa (TCAS), Disbiosis Usus, SOPK, Folikulogenesis.

ABSTRACT

Background : PCOS is the most common endocrine disorder found in reproductive age women, where lifestyle and diet play important role. High fat and high sugar diet is believed alters gut microbiota composition and plays part in the PCOS pathogenesis.

Objective : to analyze the role of high sucrose and cholic acid (HSCA) diet in the PCOS pathogenesis through the gut microbiota dysbiosis, HOMA-IR value, hyperandrogenemia dan folliculogenesis impairment.

Study Design, Sample, Time and Place : Randomized post test only control group design, 20 female Rattus Norvegicus for each group, from August to September 2021 in Faculty of Veterinary Airlangga University Surabaya.

Materials and Methods : 40 female Rattus Norvegicus divided in to 2 groups, experimental group given high sucrose concentration food, cholic acid via gastric tube and control group given standard rat food. In the end of the study, Enterobacteriaceae composition was measured with McConkey agar culture, HOMA-IR value from blood fasting insulin and glucose, total serum testosterone by rat ELISA-kit and histological examination for tertiary follicle, de Graafian follicle and corpus luteum.

Results : experimental group Enterobacteriaceae composition median value ($2,47 \times 10^3$ /CFU) is significantly lower than the control group ($4,75 \times 10^5$ /CFU), experimental group HOMA-IR mean value (4,92) is significantly higher than the control group (2,96), experimental group total serum testosterone median value (3,00 ng/mL) is significantly higher than the control group (0,65 ng/mL), experimental group tertiary follicle count mean value(1,68) is not statistically different from the control group (1,48), experimental group de Graafian follicle count median value (0,00) is significantly lower than the control group (0,5) and experimental corpus luteum count mean value (8,66) is not statistically different from the control group (8,46). Gut microbiota dysbiosis has no effect to folliculogenesis, HOMA-IR has negative effect to folliculogenesis and testosterone value has negative effect to folliculogenesis. The strongest effect of high cholic acid and high sucrose diet to folliculogenesis is to the de Graafian follicle count (24%).

Conclusions : High sucrose high cholic acid diet increase HOMA-IR value, increase serum testosterone and decrease folliculogenesis in term of de Graafian follicle count. High cholic acid high sucrose diet has no effect on gut microbiota dysbiosis.

Keywords : High Sucrose and Cholic Acid (HSCA) Diet, Dysbiosis of Gut Microbiota, PCOS, Folliculogenesis.

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Sampul Dalam	ii
Persyaratan Gelar	iii
Pernyataan	iv
Lembar Persetujuan Hasil Penelitian	v
Penetapan Panitia Penguji	vi
Ucapan Terima Kasih	vii
Ringkasan	x
Summary.....	xii
Abstrak.....	xiv
Abstract.....	xv
Daftar Isi	xvi
Daftar Tabel.....	xix
Daftar Gambar	xx
Daftar Lampiran	xxi
Daftar Singkatan Dan Arti Lambang	xxii
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan umum penelitian	5
1.3.2 Tujuan khusus penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat terhadap pengembangan ilmu	6
1.4.2 Manfaat terhadap pelayanan kesehatan	6
1.4.3 Manfaat terhadap subyek penelitian	6
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	 7
2.1 Folikulogenesis	7
2.1.1 Fase Pertama (Fase Preantral/Gonadotropin Independent)	13
2.1.1.1 Folikel Primordial	13
2.1.1.2 Folikel Primer	15
2.1.1.3 Folikel Sekunder	17
2.1.2 Fase Kedua (Fase Antral/Gonadotropin Dependent)	18
2.2 Sindroma Ovarium Polikistik	20
2.2.1 Steroidogenesis pada SOPK	20
2.2.2 Produksi Androgen Abnormal	25
2.2.3 Insulin	28
2.2.4 IGF-1	29
2.2.5 Reseptor LH pada SOPK	32
2.3 Disbiosis Mikrobiota Usus	36
2.3.1 Flora Normal Usus	36
2.3.2 Jenis-Jenis Disbiosis Mikrobiota Usus	38
2.3.3 Penyebab Disbiosis Mikrobiota Usus	41

2.3.4	Proteobacteria Sebagai Penanda Disbiosis	46
2.3.4.1	Proteobacteria Dalam Ekosistem dan Tubuh Manusia	46
2.3.4.2	Proteobacteria dan disbiosis usus	49
2.3.4.3	Pemeriksaan Enterobacteriaceae	50
2.3.5	Hubungan Disbiosis Mikrobiota Usus dan SOPK.....	52
2.3.5.1	Bukti adanya Disbiosis mikrobiota dan kebocoran usus pada SOPK	52
2.3.5.2	Lipopolisakarida Dinding Sel Bakteri dan endotoksemia metabolik	55
2.3.5.3	Inflamasi Kronis Derajat Rendah	57
2.3.5.4	Inflamasi Kronis Sebagai Penyebab Resistensi Insulin.....	58
2.3.5.5	Resistensi Insulin – Tahap Akhir Patofisiologi pada SOPK	63
2.3.6	Penanganan Disbiosis Mikrobiota Usus	65
2.3.6.1	Penanganan Terkini dari SOPK.....	65
2.3.6.2	Probiotik dan Prebiotik sebagai terapi potensial baru untuk SOPK	66
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN		69
3.1	Kerangka Konsep	69
3.2	Hipotesis	71
BAB 4 KERANGKA OPERASIONAL.....		72
4.1	Desain Penelitian	72
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian	72
4.3	Populasi dan Sampel Penelitian	72
4.3.1	Populasi	72
4.3.2	Sampel	72
4.3.3	Besar sampel.....	73
4.4	Kriteria Subyek Penelitian	73
4.4.1	Kriteria inklusi.....	73
4.4.2	Kriteria eksklusi.....	74
4.4.3	Kriteria putus uji.....	74
4.5	Variabel Penelitian.....	74
4.5.1	Variabel bebas	74
4.5.2	Variabel tergantung	74
4.6	Definisi Operasional	74
4.7	Prosedur Penelitian	76
4.7.1	Instrumen penelitian	76
4.7.2	Alat dan bahan penelitian.....	76
4.7.2.1	Alat penelitian	76
4.7.2.2	Bahan penelitian	77
4.7.3	Tahapan penelitian.....	77
4.7.4	Langkah penelitian	77
4.8	Pengolahan Data	78
4.9	Kelayakan Etik.....	79
4.10	Alur Penelitian	80

BAB 5 HASIL PENELITIAN	81
5.1 Parameter Berat Badan Hewan Coba.....	81
5.2 Komposisi Enterobacteriaceae Usus Hewan Coba	82
5.3 Nilai HOMA-IR	83
5.4 Kadar Testosteron Total Darah	83
5.5 Jumlah Hitung Folikel Tersier, Folikel de Graaf dan Korpora Lutea pada Sediaan Histologi	84
5.6 Gambaran Histologi Ovarium Hewan coba	85
5.7 Hubungan Diet Tinggi Cholic Acid dan Tinggi Sukrosa Dengan Kejadian Disbiosis Usus, Nilai HOMA-IR, Kadar Testosteron Darah dan Gangguan Folikulogenesis Ovarium Hewan Coba	85
BAB 6 PEMBAHASAN	88
6.1 Parameter Berat Badan Hewan Coba.....	89
6.2 Komposisi Enterobacteriaceae Usus Hewan Coba	90
6.3 Nilai HOMA-IR	91
6.4 Kadar Testosteron Darah	92
6.5 Jumlah Folikel Antral, Folikel de Graaf dan Korpus Luteum	93
6.6 Hubungan Diet Tinggi Cholic Acid dengan Disbiosis Usus, Nilai HOMA-IR, Kadar Testosteron Darah dan Gangguan Folikulogenesis	94
6.7 Keterbatasan Penelitian.....	95
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN.....	96
7.1 Simpulan	96
7.2 Saran.....	96
DAFTAR PUSTAKA	98
LAMPIRAN.....	110

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Perbandingan Berat Badan Awal, Berat Badan Akhir Dan Perubahan Berat Badan Kedua Kelompok.....	81
Tabel 5.2	Perbandingan Komposisi Enterobacteriaceae Kedua Kelompok.....	82
Tabel 5.3	Perbandingan Nilai HOMA-IR Kedua Kelompok.....	83
Tabel 5.4	Perbandingan Kadar Testosteron Kedua Kelompok	83
Tabel 5.5	Perbandingan Jumlah Folikel Antral, Folikel De Graaf Dan Korpus Luteum Kedua Kelompok	84
Tabel 5.6	Koefisien Korelasi Antar Variable Kedua Kelompok.....	86
Tabel 5.7	Besar Pengaruh Diet Terhadap Jumlah Folikel Antral, Folikel De Graaf Dan Korpus Luteum.....	86

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Perjalanan folikulogenesis (diadaptasi dari : Williams et al, 2008).	8
Gambar 2.2	Perkembangan folikel (diadaptasi dari : McGee et al, 2000	9
Gambar 2.3	Durasi perekrutan dan seleksi folikel ovarium manusia dan tikus (diadaptasi dari : McGee et al, 2000	11
Gambar 2.4	Gunung Folikel : Tahap spesifik faktor hormon yang terlibat dalam kelangsungan hidup dan perkembangan folikel tikus (diadaptasi dari : McGee et al, 2000	13
Gambar 2.5	Regulasi aktivasi folikel primordial. (diadaptasi dari : Williams et al, 2008).....	15
Gambar 2.6	Diagram yang menggambarkan perubahan histologi besar yang menyertai periode gonadotropin-independent folikulogenesis preantral (diadaptasi dari : Williams et al, 2008.....	16
Gambar 2.7	Fotomikrograf folikel tersier awal dengan diameter 0,4 mm dalam antral awal (diadaptasi dari : Williams et al, 2008).....	19
Gambar 2.8	Diagram folikel de Graaf (diadaptasi dari : Williams et al, 2008).	20
Gambar 2.9	Streoidogenesis teori dua sel ovarium (diadaptasi dari : Magoffin, 2010).....	27
Gambar 2.10	Struktur, transduksi sinyal, dan efek dari sistem reseptor IGF-1 ...	30
Gambar 2.11	Peran IGF-1 pada signal Hipotalamus-Hipofisis-Gonad dan Adrenal (HPO dan HPA) (diadaptasi dari : Tsatsanis,et al., 2015)	31
Gambar 2.12	Teori Dysbiosis of Gut Microbiota (DOGMA) dalam terbentuknya SOPK.....	55
Gambar 2.13	Jalur pensinyalan molekuler yang berhubungan dengan terbentuknya SOPK.....	65
Gambar 3.1	Kerangka konsep	69
Gambar 5.1	Foto preparat ovarium (pembesaran 40X) Kelompok P0.....	85
Gambar 5.2	Foto preparat ovarium (pembesaran 40X) Kelompok P1.....	85

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Bahan, Alat, dan cara kerja.....	110
Lampiran 2	Uji Statistik.....	117
Lampiran 3	Data Hasil Penelitian	127
Lampiran 4	<i>Ethical Clearance</i>	139

DAFTAR SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

Akt	<i>protein kinase B</i>
AMPK	<i>AMP-dependent Protein Kinase</i>
ASRM	<i>American Society for Reproductive Medicine</i>
β HSD	<i>betha hidroksi steroid dehydrogenase</i>
BAD	<i>Bcl-2-associated death promoter</i>
CAH	<i>congenital adrenal hyperplasia</i>
cAMP	<i>cyclic Adenosine Mono phosphate</i>
CC	<i>clomiphene citrate</i>
DHEAS	<i>dehydro epiandrosterone sulfat</i>
DM	<i>diabetes mellitus</i>
DNA	<i>deoxyribo Nucleic Acid</i>
eIF4E	<i>eukaryotic translation initiation factor 4E</i>
ERK 1/2	<i>activated Extracellular signal-Regulated Kinase 1/2</i>
ESHRE	<i>European Society of Human Reproduction and Embriology</i>
FFA	<i>free fatty acids</i>
FOG-2	<i>friends of GATA-2</i>
FOXO-1	<i>fork head box-1 protein</i>
FSH	<i>follicle-stimulating hormone</i>
GLUT-4	<i>glucose transporter type 4</i>
GnRH	<i>gonadotropin-releasing hormone</i>
GSK3	<i>glycogen synthase kinase-3</i>
GTP	<i>guanosine triphosphate</i>

HSCA	<i>High sucrose and cholic acid</i>
IGF-1	<i>insulin like growth factor-1</i>
IGF-2	<i>insulin like growth factor-2</i>
IGFBP-1	<i>insulin-like growth factor binding globulin protein-1</i>
IL-6	<i>interleukin-6</i>
IRS-1	<i>insulin receptor substrate-1</i>
JAK-STAT	<i>janus kinase-signal transducer and activator of transcription</i>
JNK/SAPK	<i>jun Nterminal kinase / stress activated protein kinase</i>
LH	<i>luteinizing hormone</i>
LOD	<i>laparoscopic ovarian drilling</i>
LPS	<i>lipopolysaccharide</i>
MAPK	<i>mitogen activated protein kinase</i>
MMP-9	<i>matrix metaloproteinase-9</i>
miR-200	<i>microRNA-200</i>
mTOR	<i>mechanistic target of rapamycin kinase</i>
NADPH	<i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
NFkB	<i>nuclear factor kappa Beta</i>
PDK1	<i>pyruvate dehydrogenase kinase 1</i>
PI3K	<i>phospatidylinositol 3-kinase</i>
PIP2/3	<i>phosphatidylinositol-4-5-biphosphate/triphosphate</i>
PKA	<i>protein kinase A</i>
PKC	<i>protein kinase C</i>
PPAR	<i>peroxisome proliferator activated receptors</i>
PTEN	<i>phosphatase and tensin homolog</i>
Ras	<i>rat sarcoma virus</i>

ROS	<i>reactive oxygen species</i>
SCC	<i>side-chain cleavage enzyme</i>
SHBG	<i>sex-hormone binding globulin</i>
SOD	<i>superoxyde dismutase</i>
SOCS3	<i>supressor of cytokine signalling-3</i>
SOPK	<i>sindroma ovarium polikistik</i>
StAR	<i>steroidogenic acute regulatory protein</i>
STAT3	<i>signal transducer and activator of transcription-3</i>
TCAS	<i>Tinggi cholic acid tinggi sukrosa</i>
TNF- α	<i>tumor necrosis factor-α</i>
TLR4	<i>toll like receptor-4</i>