

KARYA AKHIR

**PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP MALONDIALDEHIDA
(MDA) DAN *8-HYDROXY-2-DEOXYGUANOSINE* (8-OHdG)
PADA OOSIT MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**



Oleh:

Samrichard Rambulangi

NIM. 011829069305

Pembimbing:

Prof. Samsulhadi, dr., Sp. OG. Subsp. F.E.R

Prof. Dr. Widjiati, drh., Msi

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

KARYA AKHIR

**PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP MALONDIALDEHIDA
(MDA) DAN *8-HYDROXY-2-DEOXYGUANOSINE* (8-OHdG)
PADA OOSIT MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

Oleh:

Samrichard Rambulangi

NIM. 011829069305

Pembimbing:

Prof. Samsulhadi, dr., Sp.OG. Subsp.F.E.R

Prof. Dr. Widjiati, drh., Msi

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

LEMBAR PRASYARAT GELAR

**PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP MALONDIALDEHIDA
(MDA) DAN *8-HYDROXY-2-DEOXYGUANOSINE* (8-OHdG)
PADA OOSIT MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

KARYA AKHIR

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

Oleh:

Samrichard Rambulangi
NIM. 011829069305

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

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya :

Nama : Samrichard Rambulangi, dr., Sp. OG

NIM : 011829069305

Program Studi : Program pendidikan Sp2 Obstetri dan Ginekologi

Minat Studi : Fertilitas Endokrinologi dan Reproduksi

Judul : Pengaruh endometriosis terhadap Malondialdehida (MDA) dan 8hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) pada oosit mencit model endometriosis

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa karya ilmiah saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan hasil peniruan atau penjiplakan (*plagiarism*) dari karya orang lain. Karya ilmiah ini belum pernah diajukan untuk mendapat gelar akademik.

Dalam karya ilmiah 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 dalam daftar pustaka. Demikian pernyataan ini dibuat tanpa 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, 25 Oktober 2022



Samrichard Rambulangi dr., Sp. OG
NIM. 011829069305

LEMBAR PENGESAHAN

Penelitian Karya Akhir Program Studi Subspesialis (Sp2)

Obstetri dan Ginekologi yang telah disetujui pada

Tanggal 25 Oktober 2022

Oleh :

Pembimbing Ketua



Prof. Samsulhadi, dr., Sp. OG. Subsp. F.E.R
NIP. 194407072009078101

Pembimbing Kedua



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

Mengetahui

KPS Prodi Subspesialis Obstetri dan Ginekologi

FAkultas Kedokteran Universitas Airlangga



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

PENETAPAN PANITIA PENGUJI KARYA ILMIAH

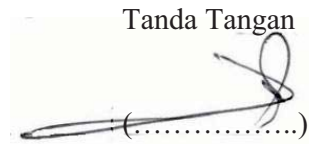
Karya ilmiah ini telah diuji dan dinilai oleh Panitia Penguji pada program Studi
Subspesialis (Sp2) Obstetri dan Ginekologi keminatan Fertilitas Endokrinologi
dan Reproduksi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Pada tanggal : 25 Oktober 2022

Panitia penguji Karya Ilmiah :

Ketua : Prof. Samsulhadi, dr., SpOG. Subsp.F.E.R

Tanda Tangan



(.....)

Anggota : 1. Prof. Dr. Widjiati, drh., Msi

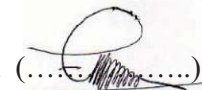


(.....)

2. Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr., Sp.OG, Subs. F.E.R

(.....)

3. Prof. Dr. H. Eddy Suparman, dr., Sp.OG, Subs. F.E.R



(.....)

4. Dr. Sri Ratna Dwiningsih, dr., Sp.OG., Subs. F.E.R



(.....)

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



(.....)

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya ucapkan kepada Tuhan yang Maha Kuasa, yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan Karya Ilmiah ini sebagai salah satu tugas akhir dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis 2 FER di Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD dr. Soetomo Surabaya dengan judul : “PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN 8-HYDROXY-2-DEOXYGUANOSINE (8-OHdG) PADA OOSIT MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS”

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

1. Prof. Samsulhadi, dr., SpOG. Subsp.F.E.R., guru besar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya / RSUD dr. Sutomo Surabaya, sekaligus sebagai pembimbing dalam penelitian ini atas segala nasihat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama saya mengikuti program 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 kami melaksanakan penelitian ini.
3. Prof. Dr. Budi Santoso, dr., SpOG. Subsp. F.E.R selaku Dekan FK Unair dan guru besar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya / RSUD dr. Sutomo Surabaya, atas kesempatan dan segala nasehat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama mengikuti pendidikan konsultan.

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 Obstetridan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD dr. Sutomo Surabaya
5. Dr. Brahmana Askandar, dr., SpOG. Subsp. Onk., selaku ketua Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD dr. Sutomo Surabaya atas segala nasehat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama mengikuti pendidikan konsultan.
6. Dr. Jimmy Yanuar Annas, dr., SpOG. Subsp. F.E.R., selaku Ketua Divisi Fertilitas, Endokrinologi dan Reproduksi dan staf pengajar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD dr. Sutomo Surabaya, atas segala nasihat sertabimbingan selama saya mengikuti program pendidikan dokter konsultan.
7. Prof. H. Lila Dewata Azinar, dr., SpOG. Subsp.F.E.R., guru besar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya / RSUD dr. Sutomo Surabaya, atas segala nasehat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama mengikuti pendidikan konsultan.
8. Dr. Sri Ratna Dwiningsih, dr., SpOG. Subsp. F.E.R, 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. Sutomo Surabaya, atas segala nasehat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama mengikuti pendidikan konsultan.

9. Prof. H. Soehartono DS, dr., SpOG. Subsp.F.E.R., guru besar Departemen / KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya / RSUD dr. Sutomo Surabaya, atas segala nasehat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama mengikuti pendidikan konsultan.
10. Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr., SpOG. Subsp. F.E.R., staf pengajar dan guru besar pada Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD dr. Sutomo Surabaya dan sekaligus sebagai pembimbing dalam penelitian ini atas segala nasehat, dorongan, bimbingan dan petunjuk yang diberikan selama mengikuti pendidikan konsultan.
11. Relly Y Primariawan, dr., SpOG. Subsp. F.E.R., 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 konsultan.
12. Dr. Ashon Sa'adi, dr., SpOG. Subsp. F.E.R., 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 konsultan.
13. Prof. Dr. H. Eddy Suparman, dr., Sp.OG. Subsp. F.E.R., selaku penguji luar yang banyak memberikan masukan demi perbaikan karya ilmiah saya.
14. Sejawat peserta PPDS II FER M.Y. Ardianta Widyanugraha, dr.SpOG, Achmad Reza, dr.SpOG, Ody Wijaya, dr.SpOG, Teguh Wiyono, dr.SpOG, Maya Devi

Arifiandi, dr.SpOG dan rekan – rekan PPDS II Departemen /KSM Obstetri dan Ginekologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga / RSUD dr. Sutomo Surabaya

15. Mbak Yanti Tambunan, yang banyak membantu dalam penjadwalan stase dan kelengkapan administrasi selama saya mengikuti pendidikan subspesialis.
16. Selanjutnya doa yang tak pernah putus kami persembahkan kepada Ayahanda John Rambulangi dan Ibunda Dorkas Sakkung atas motivasi dan penuh kasih sayang telah membesarkan dan mewujudkan cita – cita ananda.
17. Kepada istriku tercinta Yudith Helena ST., MT., dan anak – anakku tersayang Michele N.E. Rambulangi, Alviano F.I. Rambulangi dan Calysta A.E. Rambulangi atas pengobanannya dan yang selalu menjadi motivasi untuk menyelesaikan pendidikan subspesialis.

Kami menyadari sepenuhnya bahwa penelitian ini masih jauh dari sempurna, karena itu kami mengharapkan kritik dan saran yang akan sangat bermanfaat. Dan pada kesempatan ini pula, perkenankanlah kami menyampaikan permohonan maaf yang setulusnya atas segala tingkah laku dan sikap kami yang tidak berkenan selama mengikuti pendidikan konsultan ini. Semoga Tuhan yang maha kuasa, membalas segala budi baik yang telah diberikan kepada kami dan senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita serta menjadikan ilmu yang kita peroleh menjadi ilmu yang bermanfaat bagi sesama.

Surabaya, 25 Oktober 2022



Samrichard Rambulangi

RINGKASAN

**PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP MALONDIALDEHIDA
(MDA) DAN 8-HYDROXY-2-DEOXYGUANOSINE (8-OHdG)
PADA OOSIT MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS**

I. Latar Belakang

Mekanisme endometriosis menyebabkan infertilitas sampai saat ini belum dapat dijelaskan sepenuhnya. Dari beberapa penelitian, endometriosis berhubungan dengan rendahnya angka kehamilan, dimana endometriosis diduga mempengaruhi proses implantasi embrio di endometrium dan keberhasilan kehamilan pada pasien yang menjalani *in vitro fertilization* (IVF) (Xu *et al.*, 2015). Fertilisasi dan tingkat pembelahan oosit juga dilaporkan oleh Carlberg *et al* lebih rendah pada wanita dengan endometriosis yang menjalani IVF dibandingkan wanita tanpa endometriosis. Hal ini diduga terkait dengan gangguan fungsi oosit (Carlberg *et al.*, 2000).

Literatur menunjukkan bahwa stres oksidatif menjadi faktor potensial yang terlibat dalam patogenesis, pembentukan, dan perkembangan endometriosis (Carvalho *et al.*, 2013). Peningkatan ROS di ovarium memicu terjadinya peroksidasi lipid pada rantai samping *Polyunsaturated Fatty Acid* (PUFA) dari membran plasma maupun organel intraseluler yang mengandung lipid (Mohammadi, 2019). Oosit diketahui memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi, sehingga dapat sangat terpengaruh oleh proses peroksidasi lipid (Dunning *et al*, 2014). Malondialdehida (MDA) merupakan salah satu produk sekunder proses peroksidasi lipid yang paling sering digunakan sebagai biomarker untuk kerusakan membran sel. Pemeriksaan kadar MDA dipilih sebagai salah satu indikator atau penanda biologis utama untuk menunjukkan derajat peroksidasi lipid maupun kerusakan oksidatif yang terjadi pada membran sel dan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) (Enechukwu *et al.*, 2019). Pada inti sel dan DNA mitokondria, *8-hydroxy-2-deoxyguanosine* (8-OHdG) adalah salah satu hasil dari kerusakan oksidatif yang diinduksi oleh radikal bebas khususnya radikal hidroksil (HO•). Produksi 8-OHdG disebabkan oleh karena terjadinya oksidasi pada salah satu basa penyusun DNA yaitu basa guanin (G). Basa guanin (G) sebagai basa nukleus yang paling poten terhadap radikal bebas akan teroksidasi dalam DNA genom sehingga dapat menyebabkan mutasi transversi atau *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNP) pada urutan nukleotida DNA (Valavanidis *et al*, 2009; Ock *et al.*, 2012).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh endometriosis terhadap MDA dan 8-OHdG. 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 perlakuan (P0) dan kelompok kontrol (P1). Pada kelompok P0, 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 plasebo. 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. Tujuh belas 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*. Oosit per mencit yang didapat dibagi 2 kemudian dilakukan pemeriksaan kadar MDA dan 8-OHdG dengan teknik ELISA. Pengukuran kadar MDA dengan menggunakan *ELISA Kit Bioassay Technology Laboratory* (Cat.No E0156Ra) dan kadar 8-OHdG dengan Kit Elabsience (Catalog No : E-EL-0028). Data yang diperoleh kemudian diolah dengan menggunakan perangkat lunak SPSS untuk uji statistik.

III. Hasil

Besar sampel yang digunakan sebanyak 32 ekor mencit yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Penelitian ini melibatkan 2 kelompok mencit, yaitu kelompok perlakuan (mencit betina model endometriosis) dan kelompok kontrol (mencit betina sehat). Masing-masing kelompok terdiri dari 16 ekor mencit. Oosit tiap mencit dibagi 2, masing untuk pemeriksaan MDA dan 8-OHdG.

Terdapat kadar MDA lebih tinggi secara bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$) dengan nilai rerata pada kelompok endometriosis 1,238 nmol/mL dan kelompok kontrol 1,214 nmol/mL. Kadar 8-OHdG juga didapatkan lebih tinggi secara bermakna pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol ($p < 0,05$) dengan nilai rerata pada kelompok endometriosis 11,775 pg/mL dan kelompok kontrol 6,143 pg/mL.

Hasil uji korelasi antara kadar MDA terhadap kadar 8-OHdG oosit kelompok perlakuan (mencit model endometriosis) menunjukkan tidak adanya hubungan yang bermakna ($p > 0,05$).

IV. Pembahasan

Peroksidasi lipid merupakan proses di mana radikal bebas menyerang lipid yang mengandung ikatan rangkap karbon, terutama asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) yang melibatkan abstraksi hidrogen dari karbon, dengan penyisipan oksigen yang menghasilkan radikal peroksil lipid dan hidroperoksida. Dua ROS paling umum yang dapat mempengaruhi lipid secara mendalam yaitu radikal hidroksil ($\text{HO}\cdot$) dan hidroper-oksil ($\text{HO}_2\cdot$). Radikal hidroksil menyebabkan kerusakan oksidatif pada sel karena mereka secara tidak spesifik menyerang biomolekul yang terletak kurang dari beberapa nanometer dari tempat pembentukannya (Ayala *et al*, 2014).

Malondialdehida (MDA) merupakan suatu molekul yang dihasilkan sebagai produk samping dari proses peroksidasi lipid yang dipicu oleh ROS di ovarium. Malondialdehida (MDA) merupakan produk yang paling mutagenik dari reaksi peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid yang dipengaruhi oleh radikal hidroksil akan menghasilkan MDA yang tinggi. Pada proses oogenesis, pengaruh stres oksidatif belum diketahui dengan jelas. Stres oksidatif diduga mempengaruhi proses pembentukan spindle kromosom yang mengarah ke aneuploidi (Ayala *et al.*, 2014; Paine *et al.*, 2013). Pada penelitian ini Malondialdehida (MDA) terbukti meningkat dan berbeda bermakna antara perlakuan dan kontrol ($p < 0,05$).

Senyawa *8-hydroxy-2-deoxyguanosine* (8-OHdG) adalah salah satu biomarker paling penting dari kerusakan DNA yang disebabkan oleh radikal bebas. Sebuah studi membuktikan bahwa kadar 8-OHdG lebih tinggi dalam cairan peritoneum pasien dengan endometriosis daripada cairan dari kelompok kontrol. Wanita dengan endometriosis mengalami stres oksidatif yang lebih tinggi dan memiliki tingkat kerusakan DNA yang diinduksi radikal bebas yang lebih tinggi (Gupta *et al*, 2015). Pendapat ini didukung oleh penelitian Broi *et al*, dimana pada penderita endometriosis didapatkan peningkatan 8-OHdG yang bermakna pada pemeriksaan zair peritoneum. Data ini menunjukkan terjadinya kerusakan akibat stres oksidatif pada DNA dalam lingkungan mikro, sehingga dapat membahayakan kualitas gamet. Menurut Seino *et al* 2002, konsentrasi tinggi 8-OHdG dalam sel granulosa wanita infertil yang menjalani fertilisasi in vitro (IVF) berkorelasi negatif dengan tingkat pembuahan dan kualitas embrio (Broi *et al*, 2016). Kerusakan kromosom akibat peningkatan ROS dan terjadinya kerusakan DNA pada oosit dapat berupa abnormal meiosis spindle dan *misalignment* kromosom (Hendarto, 2012). Berdasarkan penelitian yang kami lakukan, didapatkan adanya perbedaan yang bermakna antara oosit mencit model endometriosis dan kontrol ($p < 0,05$).

Dari uji korelasi yang kami lakukan antara kadar MDA dan 8-OHdG didapatkan hubungan yang tidak bermakna ($p > 0,05$). Hal ini berbeda jika dihubungkan dengan teori bahwa peroksidasi lipid pada oosit penderita endometriosis menghasilkan MDA yang lebih tinggi melalui proses enzimatis maupun non-enzimatis dan mengakibatkan rusaknya DNA. Hasil ini menunjukkan bahwa stres oksidatif yang terjadi pada peroksidasi lipid mungkin tidak secara

langsung mempengaruhi kerusakan DNA atau tingginya faktor-faktor inflamasi pada zair peritoneum dapat langsung mempengaruhi kerusakan DNA tanpa melalui peroksidasi lipid. Oleh sebab itu diperlukan penelitian komprehensif lebih lanjut untuk melihat apakah ada jalur lain yang menghubungkan pengaruh stres oksidatif terhadap kerusakan DNA.

V. Simpulan

Didapatkan kadar Malondialdehida (MDA) dan kadar 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) lebih tinggi pada oosit mencit model endometriosis dibanding mencit kontrol. Tidak terdapat hubungan bermakna antara kadar Malondialdehida (MDA) terhadap kadar 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) mencit model endometriosis.

SUMMARY

EFFECT OF ENDOMETRIOSIS ON MALONDIALDEHYDE (MDA) AND 8-HYDROXY-2-DEOXYGUANOSINE (8-OHdG) ON ENDOMETRIOSIS MOUSE OOCYTES

I. Background

The mechanism by which endometriosis causes infertility has not yet been fully elucidated. From several studies, endometriosis is associated with low pregnancy rates, where endometriosis is thought to affect the process of implantation of embryos in the endometrium and the success of pregnancy in patients undergoing in vitro fertilization (IVF) (Xu et al., 2015). Fertilization and oocyte division rates were also reported by Carlberg et al to be lower in women with endometriosis undergoing IVF than in women without endometriosis. This is thought to be associated with impaired oocyte function (Carlberg et al., 2000).

The literature indicates that oxidative stress is a potential factor involved in the pathogenesis, formation, and development of endometriosis (Carvalho et al., 2013). Increased ROS in the ovaries triggers lipid peroxidation in the side chains of Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA) from plasma membranes and intracellular organelles containing lipids (Mohammadi, 2019). Oocytes are known to have a fairly high lipid content, so they can be strongly affected by the lipid peroxidation process (Dunning et al, 2014). Malondialdehyde (MDA) is one of the secondary products of the lipid peroxidation process which is most often used as a biomarker for cell membrane damage. Examination of MDA levels was chosen as one of the main biological indicators or markers to show the degree of lipid peroxidation and oxidative damage that occurs in cell membranes and Deoxyribonucleic Acid (DNA) (Enechukwu et al., 2019). In the cell nucleus and mitochondrial DNA, 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) is one of the products of oxidative damage induced by free radicals, especially hydroxyl radicals (HO•). The production of 8-OHdG is caused by the oxidation of one of the DNA constituent bases, namely the guanine (G) base. Guanine base (G) as the most potent nuclear base against free radicals will be oxidized in genomic DNA so that it can cause transversion mutations or Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) in DNA nucleotide sequences (Valavanidis et al, 2009; Ock et al., 2012).

This study aimed to analyze the effect of endometriosis on MDA and 8-OHdG. Considering that research in humans to determine the effect of endometriosis on oocytes has ethical constraints, this study uses mouse oocytes as a model of endometriosis.

II. Methode and Materials

This study used mice as experimental animals for endometriosis models. There were 32 mice divided into 2 groups, namely the treatment group (P0) and the control group (P1). In the P0 group, we made mice model of endometriosis by lowering their immunity, then injected human endometrium intraperitoneally. To stimulate the growth of the endometrium, given an injection of estrogen. Fourteen days after intraperitoneal injection of the endometrium, it was expected that the mice had become models of endometriosis. In the control group, a placebo was injected. All groups of mice were then superovulated by giving PMSG and hCG injections and mated with male mice that had been vasectomy. Induction of lust by mating with male mice is needed to trigger ovulation in experimental mice. Seventeen hours after hCG injection, all mice were terminated for collection of oocyte-cumulus complex (COC) from the fertilization bag. The cumulus cells and oocytes were then separated with the help of the hyaluronidase enzyme. The mice oocytes obtained were divided into 2 and then the levels of MDA and 8-OHdG were examined using the ELISA technique. Measurement of MDA levels using the ELISA Kit Bioassay Technology Laboratory (Cat.No E0156Ra) and levels of 8-OHdG using the Elabscience Kit (Catalog No: E-EL-0028). The data obtained were then processed using SPSS software for statistical tests

III. Results

The sample size used was 32 mice that met the inclusion and exclusion criteria. This study involved 2 groups of mice, namely the treatment group (female endometriosis model mice) and the control group (healthy female mice). Each group consisted of 16 mice. The oocytes of each mouse were divided into 2, respectively for the examination of MDA and 8-OHdG.

There were significantly higher MDA levels in the treatment group than the control group ($p < 0.05$) with the mean value in the endometriosis group being 1.238 nmol/mL and the control group 1.214 nmol/mL. 8-OHdG levels were also found to be significantly higher in the treatment group than the control group ($p < 0.05$) with the mean value in the endometriosis group being 11.775 pg/mL and the control group 6.143 pg/mL.

The results of the correlation test between MDA levels and 8-OHdG oocytes in the treatment group (endometriosis mice) showed no significant relationship ($p > 0.05$).

IV. Discussion

Lipid peroxidation is a process in which free radicals attack lipids containing carbon double bonds, especially polyunsaturated fatty acids (PUFA) involving the abstraction of hydrogen from carbon, with the insertion of oxygen to produce lipid peroxyl radicals and hydroperoxides. The two most common ROS that can profoundly affect lipids are hydroxyl radicals ($\text{HO}\cdot$) and hydroper-oxyl

(HO·2). Hydroxyl radicals cause oxidative damage to cells because they nonspecifically attack biomolecules located less than a few nanometers from the site of formation (Ayala et al, 2014).

Malondialdehyde (MDA) is a molecule produced as a by-product of the lipid peroxidation process triggered by ROS in the ovaries. Malondialdehyde (MDA) is the most mutagenic product of the lipid peroxidation reaction. Lipid peroxidation influenced by hydroxyl radicals will produce high MDA. In the process of oogenesis, the effect of oxidative stress is not clearly known. Oxidative stress is thought to affect the process of chromosomal spindle formation leading to aneuploidy (Ayala et al., 2014; Paine et al., 2013). In this study, Malondialdehyde (MDA) was shown to increase and significantly different between treatment and control ($p < 0.05$).

The compound 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) is one of the most important biomarkers of DNA damage caused by free radicals. A study proved that 8-OHdG levels were higher in the peritoneal fluid of patients with endometriosis than in the fluid from the control group. Women with endometriosis experience higher oxidative stress and have higher rates of free radical-induced DNA damage (Gupta et al, 2015). This opinion is supported by the study of Broi et al, where in patients with endometriosis there was a significant increase in 8-OHdG on examination of peritoneal fluid. These data indicate the occurrence of oxidative stress-induced damage to DNA in the microenvironment, which may compromise gamete quality. According to Seino et al 2002, high concentrations of 8-OHdG in granulosa cells of infertile women undergoing in vitro fertilization (IVF) were negatively correlated with fertilization rate and embryo quality (Broi et al, 2016). Chromosomal damage due to increased ROS and the occurrence of DNA damage in oocytes can be in the form of abnormal meiosis spindle and chromosomal misalignment (Hendarto, 2012). Based on our research, it was found that there was a significant difference between the oocytes of the endometriosis model and the control mice ($p < 0.05$).

From the correlation test that we conducted between MDA and 8-OHdG levels, we found a non-significant relationship ($p > 0.05$). This is different from the theory that lipid peroxidation in oocytes with endometriosis results in higher MDA through enzymatic and non-enzymatic processes and results in DNA damage. These results indicate that oxidative stress that occurs in lipid peroxidation may not directly affect DNA damage or that high levels of inflammatory factors in peritoneal fluid may directly affect DNA damage without lipid peroxidation. Therefore, further comprehensive research is needed to see if there are other pathways linking the effect of oxidative stress to DNA damage

V. Conclusion

The levels of malondialdehyde (MDA) and levels of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) were higher in oocytes of endometriosis-associated mice than in control mice. There was no significant relationship between levels of malondialdehyde (MDA) and levels of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) in endometriosis model mice.

ABSTRAK

PENGARUH ENDOMETRIOSIS TERHADAP MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN 8-HYDROXY-2-DEOXYGUANOSINE (8-OHdG) PADA OOSIT MENCIT MODEL ENDOMETRIOSIS

Samrichard Rambulangi, Samsul Hadi, Widjiati

Latar Belakang : Mekanisme endometriosis menyebabkan infertilitas belum dapat dijelaskan sepenuhnya. Peroksidasi lipid merupakan salah satu jalur yang menyebabkan penurunan kualitas oosit akibat pengaruh endometriosis. MDA produk dari peroksidasi lipid akan mempengaruhi peningkatan 8-OHdG sehingga terjadi kerusakan DNA.

Tujuan : Membuktikan pengaruh endometriosis terhadap kadar MDA dan 8-OHdG oosit mencit model endometriosis.

Desain Studi, Sampel, Tempat dan Waktu : Penelitian *true experimental* pada hewan coba, bulan Agustus-September 2022 di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Metode : Menggunakan 32 ekor mencit dibagi menjadi kelompok perlakuan (model endometriosis) dan kontrol. Oosit diperoleh dari tiap kelompok mencit setelah dipisahkan dari Kompleks Oosit-Kumulus (KOK). Oosit diperiksa kadar MDA dan 8-OHdG dengan cara ELISA.

Hasil : Didapatkan kadar MDA dan 8-OHdG lebih tinggi secara bermakna pada mencit perlakuan dibandingkan mencit kontrol ($p < 0,05$). Uji korelasi antara kadar MDA terhadap kadar 8-OHdG oosit kelompok perlakuan (mencit model endometriosis) menunjukkan tidak adanya hubungan yang bermakna ($p > 0,05$).

Simpulan : Didapatkan kadar Malondialdehida (MDA) dan 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) lebih tinggi pada oosit mencit perlakuan mencit kontrol. Tidak terdapat hubungan bermakna kadar Malondialdehida (MDA) terhadap kadar 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) mencit perlakuan.

Kata Kunci : endometriosis, MDA, 8-OHdG, oosit

ABSTRACT

THE EFFECT OF ENDOMETRIOSIS ON MALONDIALDEHYDE (MDA) AND 8-HYDROXY-2-DEOXYGUANOSINE (8-OHdG) ON ENDOMETRIOSIS MOUSE OOCYTES

Samrichard Rambulangi, Samsul Hadi, Widjiati

Background : The mechanism of endometriosis causing infertility has not been fully elucidated. Lipid peroxidation is one of the pathways that causes a decrease in oocyte quality due to the influence of endometriosis. MDA product of lipid peroxidation will affect the increase in 8-OHdG resulting in DNA damage.

Objective: To prove the effect of endometriosis on the levels of MDA and 8-OHdG oocytes of endometriosis models of mice

Study Design, Sample, Place and Time: True experimental research on experimental animals, August-September 2022 at the Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University.

Methods: Using 32 mice divided into treatment groups (endometriosis model) and control groups. Oocytes were obtained from each group of mice after being separated from the Oocyte-Cumulus Complex (COC). Oocytes were checked for MDA and 8-OHdG levels by ELISA.

Results: The levels of MDA and 8-OHdG were significantly higher in the treated mice than in the control mice ($p < 0.05$). The correlation test between MDA levels and 8-OHdG oocytes in the treatment group (endometriosis mice) showed no significant relationship ($p > 0.05$).

Conclusion: Malondialdehyde (MDA) and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) levels were found to be higher in oocytes of mice treated with control mice. There was no significant relationship between levels of malondialdehyde (MDA) and levels of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) treated mice.

Keywords: endometriosis, MDA, 8-OHdG, oocytes

DAFTAR ISI

SAMPUL LUAR.....	i
SAMPUL DALAM.....	ii
PERSYARATAN GELAR	iii
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN	iv
LEMBAR PENGESAHAN	v
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	vi
UCAPAN TERIMAH KASIH	vii
RINGKASAN	xi
<i>SUMMARY</i>	xv
ABSTRAK	xix
<i>ABSTRACT</i>	xx
DAFTAR ISI	xxi
DAFTAR TABEL	xxiv
DAFTAR GAMBAR	xxv
DAFTAR LAMPIRAN	xxvi
DAFTAR SINGKATAN	xxvii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.3.1 Tujuan umum	6
1.3.2 Tujuan khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat teoritis	6
1.4.2 Manfaat praktis	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Endometriosis	8
2.1.1 Definisi dan epidemiologi	8
2.1.2 Patogenesis	10
2.1.2.1 Teori aliran balik darah haid	11
2.1.2.2 Teori selomik metaplasia	13
2.1.2.3 Teori hormon	14
2.1.2.4 Teori inflamasi dan stres oksidatif	15
2.1.2.5 Teori defek sistem imun	17
2.1.2.6 Teori genetik	18
2.1.2.7 Teori stem sel	19
2.1.3 Gejala klinis	20
2.1.4 Diagnosis	21
2.1.4.1 Anamnesis dan pemeriksaan fisis	21

2.1.4.2 Pemeriksaan penunjang	23
2.1.4.2.1 Ultrasonografi vaginal (TVS)	23
2.1.4.2.2 <i>Magnetic Resonance Imaging</i> (MRI)	24
2.1.4.2.3 Marker biokimia serum	24
2.1.4.2.4 Laparoscopi	26
2.1.5 Stadium endometriosis	26
2.2 Endometriosis dan Infertilitas	27
2.3 Endometriosis dan Gangguan Folikulogenesis	29
2.4 Endometriosis dan Stres oksidatif	31
2.5 <i>Reactive Oxygens Species</i> (ROS) dan Peroksidasi Lipid	33
2.6. Malondialdehida (MDA)	34
2.6.1 Definisi dan struktur kimia	34
2.6.2 Mekanisme peroksidasi lipid dan pembentukan MDA	35
2.6.3 Peroksidasi lipid di oosit	37
2.7 Senyawa 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG)	39
2.7.1 Definisi dan struktur kimia	39
2.7.2 Mekanisme pembentukan 8-OHdG	40
2.7.3 Dampak 8-OHdG di oosit	40
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	42
3.1 Kerangka Konseptual	42
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual	43
3.3 Hipotesis	45
BAB 4 METODE PENELITIAN	46
4.1 Desain Penelitian	46
4.2 Populasi, Sampel dan Besar Sampel Penelitian	46
4.2.1 Populasi	46
4.2.2 Sampel	47
4.2.3 Besar sampel	47
4.3 Variabel Penelitian	48
4.3.1 Variabel penelitian	48
4.3.2 Variabel tergantung	48
4.3.3 Variabel kendali	48
4.4 Definisi Operasional	48
4.5 Bahan Penelitian	50
4.5.1 Kandang	50
4.5.2 Makanan	50
4.5.3 Alat suntik	50
4.5.4 Peralatan pembedahan dan pemeriksaan	50
4.6 Tempat dan Waktu Penelitian	51
4.7 Prosedur Penelitian	51
4.8 Alur Penelitian	56
4.9 Pengolahan dan Analisa Data	57

4.10 Kelayakan Etik	57
BAB 5 HASIL PENELITIAN	58
5.1 Karakteristik Sampel	58
5.2 Uji Normalitas Kadar MDA dan 8-OHdG	58
5.3 Uji Analisa Kadar MDA	60
5.4 Uji Analisa Kadar 8-OHdG	61
5.5 Korelasi Kadar MDA terhadap kadar 8-OHdG	61
BAB 6 PEMBAHASAN	62
6.1 Malondialdehida (MDA) Oosit pada Endometriosis	63
6.2 Senyawa 8-OHdG Oosit pada Endometriosis	65
6.3 Hubungan MDA dan 8-OHdG	67
6.4 Keterbatasan Penelitian	67
BAB 7 SIMPULAN DAN SARAN	69
7.1 Simpulan	69
7.2 Saran	69
DAFTAR PUSTAKA	70
LAMPIRAN	75

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Teori patogenesis dan mekanisme endometriosis	11
Tabel 2.2	Gejala klinis endometriosis	21
Tabel 2.3	Pemeriksaan TVS pada endometrioma	23
Tabel 2.4	Sensitifitas dan spesifisitas TVS pada endometrioma	24
Tabel 5.1	Karakteristik sampel.....	58
Tabel 5.2	Uji normalitas MDA dan 8-OHdG	58
Tabel 5.3	Uji analisa data kadar MDA oosit.....	60
Tabel 5.4	Uji analisa data kadar 8-OHdG oosit	61
Tabel 5.5	Uji korelasi (Pearson) kadar MDA terhadap 8-OHdG oosit mencit model endometriosis.....	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Teori aliran balik menstruasi oleh Sampson	13
Gambar 2.2	Teori Metaplasia	14
Gambar 2.3	Revisi sistem klasifikasi endometriosis oleh <i>American Society for Reproductive Medicine</i>	27
Gambar 2.4	Patomekanisme infertilitas pada endometriosis	32
Gambar 2.5	Mekanisme gangguan folikulogenesis pada endometriosis	33
Gambar 2.6	Struktur kimia MDA	34
Gambar 2.7	Proses pembentukan dan metabolisme MDA	36
Gambar 2.8	Struktur kimia 8-OHdG	39
Gambar 2.9	Reaksi Guanin dengan radikal hidroksil menjadi 8-OHdG	40
Gambar 3.1	Kerangka Konseptual	42
Gambar 4.1	Pembagian kelompok mencit	46
Gambar 4.2	Alur penelitian.....	56
Gambar 5.1	Sebaran kadar MDA kelompok perlakuan dan kontrol.....	59
Gambar 5.2	Sebaran kadar 8-OHdG kelompok perlakuan dan kontrol.....	60
Gambar 6.1	Endometriosis peritoneum pada mencit perlakuan yang Diterminasi	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Keterangan kelaikan etik	75
Lampiran 2	Hasil uji statistik	76

DAFTAR SINGKATAN

•O ₂	: Superoxide anion
4-HNE	: 4-Hydroxy-2,3-trans-nonenal
8-OHdG	: 8-hydroxy-2-deoxyguanosine
17β-HSD	: 17β hidroksi steroid dehidrogenase
ADP	: Adenosine Diphosphate
ALE	: <i>Advanced Lipoxidation End product</i>
A	: Androstenedion
ASRM	: <i>American Society for Reproductive Medicine</i>
ATP	: Adenosine Triphosphate
Basa G	: Basa Guanin
BCL-2	: <i>B-Cell Leukemia/Lymphoma-2</i>
Ca	: Calsium
CA-125	: Cancer Antigen-125
COX-2	: Siklo-oksigenase-2
CO ₂	: Carbon dioxide
CoQ10	: Coenzyme Q10
COMT	: Catechol-O-methyltransferase
CYP	: <i>Cytochrome P450</i>
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
E1	: Estron
E2	: Estradiol
ESR-1	: Estrogen Receptor-1
EEC	: <i>Endoscopic Endometriosis Classification</i>
ETC	: <i>Electron Transport Chain</i>
GDF-9	: <i>Growth Differentiation Factor-9</i>
HO•	: Radikal hidroksil
HO• ₂	: Hidroperoksil
H ₂ O	: Dihydrogen monoxide
hCG	: <i>human Chorionic Gonadotropin</i>
HIFERI	: Himpunan Fertilitas Endokrinologi dan Reproduksi Indonesia
IVF	: <i>In Vitro Fertilization</i>
IL	: Interleukin
ICAM-1	: Intercellular Adhesion Molecule-1
L•	: Radikal lipid
LOO•	: Radikal peroksi lipid
LOOH	: Lipid hidroperoksida
MCP	: <i>Monocyte Chemotactic Protein</i>
MDA	: Malondialdehida
MIF	: <i>Macrophage Migration Inhibitory Factor</i>

MMP	: <i>Matrix Metalloproteinase</i>
MRC	: <i>Mitochondrial Respiratory Chain</i>
MRI	: <i>Magnetic Resonance Imaging</i>
mRNA	: <i>messenger Ribonucleic acid</i>
mtDNA	: <i>mitokondria DNA</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NICE	: <i>National Institute for Health and Care Excellence</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
PCB	: <i>Polychlorinated Biphenyl</i>
PGE2	: <i>Prostaglandin E2</i>
PMSG	: <i>Pregnant Mare Serum Gonadotropin</i>
PUFA	: <i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>
RANTES	: <i>Regulated on Activation Normal T Expressed and Secreted</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygens Species</i>
SDHA	: <i>Succinate Dehydrogenase complex flavoprotein subunit A</i>
sICAM-1	: <i>Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1</i>
SNP	: <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
TVS	: <i>Transvaginal Sonography</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>