

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut WHO tahun 2016, persentase jumlah perokok laki-laki penduduk Indonesia 15 tahun ke atas 76,2% dengan ranking tertinggi, kedua Jordan 70,2% dan ketiga Sierra Leone sebesar 60%. Keadaan ini semakin mengkhawatirkan, karena prevalensi perokok perempuan turut meningkat dari 4,2 % pada tahun 1995 menjadi 6,7% pada tahun 2013. Dengan demikian, pada 20 tahun yang lalu dari setiap 100 orang perempuan Indonesia 4 orang diantaranya adalah perokok. Dewasa ini dari setiap 100 orang perempuan Indonesia 7 orang diantaranya adalah perokok (KemenkesRI, 2016). Peningkatan konsumsi rokok dapat berdampak pada makin tingginya beban penyakit akibat rokok dan bertambahnya angka kematian akibat rokok. Data membuktikan bahwa akibat penggunaan rokok akan mempengaruhi kualitas generasi yang akan datang. Disamping itu, angka fertilitas dan impotensi dapat terjadi pada wanita perokok aktif dan perokok pasif, keduanya mempunyai peningkatan resiko tertundanya kemampuan menjadi hamil (KemenkesRI, 2016).

Infertilitas merupakan ketidakmampuan untuk hamil sesudah dua belas bulan (enam bulan pada wanita lebih dari 35 tahun) melakukan hubungan seksual aktif dan tanpa menggunakan alat kontrasepsi. Kehamilan dapat terjadi apabila terjadi proses yang meliputi pelepasan telur dari ovarium, telur harus melalui saluran tuba menuju rahim, terjadi pertemuan sperma dengan sel telur, dan terjadi implantasi. Ketidaksuburan dapat terjadi jika ada masalah dengan salah satu proses tersebut (Kusmiran, 2013). Infertilitas memberikan dampak bagi pasangan suami

istri yang mengalaminya, selain menyebabkan masalah medis, juga berdampak pada masalah psikologis bahkan perekonomian. Secara garis besar, pasangan yang mengalami infertilitas akan menjalani proses panjang, di mana proses ini dapat menjadi beban fisik dan psikologis bagi pasangan infertilitas (Koes, 2014).

Infertil merupakan masalah yang sangat sensitif dan sulit bagi pasangan yang sudah menikah, terutama bagi pasangan yang sudah menikah dalam waktu yang lama (Wiweko, 2017). Infertilitas merupakan masalah yang dialami wanita maupun pria di seluruh dunia. Kondisi yang menyebabkan infertilitas dari faktor wanita 65%, faktor suami 20%, kondisi lain-lain dan tidak diketahui 15% (Beckmann CRB, 2010). Terdapat dua faktor yang mempengaruhi kejadian infertilitas, yaitu internal dan eksternal. Faktor internal antara lain kelainan hormonal, kista ovarium dan tumor. Faktor eksternal antara lain usia, kebiasaan merokok, alkohol juga mempengaruhi kesuburan (Roupa, 2009).

Hasil studi pendahuluan di RSIA Hikmah Sawi Bangkalan Maret 2018 menunjukkan bahwa kunjungan pasien dengan kasus infertilitas cukup tinggi, antara lain : kasus Infertil kurang lebih 25 pasien kunjungan per bulan , *Blighted Ovum* rata-rata 10-15 kasus per bulan. Dari 15 pasien yang mengalami *Blighted Ovum* didapatkan 93,3% (14 pasien) terpapar asap rokok di rumah, sedangkan dari 12 pasien hamil normal didapatkan 1 pasien suami berhenti merokok setelah menikah, 2 pasien merokok tetapi di luar rumah, dan 9 pasien tidak merokok.

Infertilitas pada wanita disebabkan oleh berbagai faktor, antara lain; 1. Gangguan organ reproduksi (infeksi, kelainan tuba falopi, kelainan uterus, kelainan serviks), 2. Gangguan Ovulasi : Kondisi ini disebabkan karena adanya

ketidakseimbangan hormon, seperti terjadi hambatan pada sekresi hormon LH dan FSH, yang mana kedua hormon tersebut berperan penting dalam proses ovulasi. Hambatan ini seringkali disebabkan karena stres, penggunaan obat-obatan, dan adanya tumor cranial yang mengakibatkan terjadi disfungsi hipofisis dan hipotalamus. Jika kedua hormon tersebut mengalami gangguan sekresi, maka pematangan folikel akan terganggu, sehingga menyebabkan terjadinya gangguan ovulasi.

3. Kegagalan Implantasi ; Jika jumlah kadar hormon progesteron yang dimiliki oleh seorang wanita rendah, maka kesiapan endometrium untuk nidasi akan mengalami kegagalan. Sehingga menyebabkan fetus tidak bisa berkembang dengan baik dan terjadilah kegagalan implantasi, *blighted ovum* dan abortus.

4. Endometriosis, 5. Faktor imunologik, dan 6. Lingkungan ; paparan radiasi dosis tinggi, gas anastesi, asap rokok, pestisida, dan zat kimia yang bisa mengakibatkan timbulnya toxic pada bagian tubuh wanita hingga organ reproduksi, sehingga dapat mengganggu kesuburan wanita tersebut (Djuwantono, 2008).

Gangguan proses ovulasi biasanya disebabkan karena gangguan hipotalamus-hipofisis, ovarium, dan endometrium sehingga terjadi gangguan proses pematangan folikel serta gangguan implantasi. Folikulogenesis adalah pusat dari fertilitas wanita dan secara halus dibentuk oleh komunikasi kompleks endokrin antara system saraf pusat, hipotalamus, dan ovarium. Dalam hal ini, pesan parakrin intraovarium adalah dasar dari maturasi oosit dan pertumbuhan juga perkembangan folikel serta menyediakan sensitivitas yang adekuat untuk stimulasi gonadotropin. Maka dari itu pesan yang berasal dari oosit harus berkesinambungan dan dapat merangkai formasi dari folikel primordial dan mengontrol maturasi folikel kedepannya (Persani, Rossetti, & Matzuk, 2014).

Salah satu pemicu gangguan proses pematangan folikel beserta inti oosit adalah adanya reactive oxygen spesies yang dapat mempengaruhi terjadinya stress oksidatif yang disebabkan oleh zat yang terkandung di dalam asap rokok. Menurut Batubara D (2013), wanita perokok pasif dapat mengalami gangguan haid pada sistem reproduksi, berat janin kurang dan gangguan masalah reproduksi lainnya. Pada seseorang yang merokok itu menghirup asap rokok sekitar 15% dan 85% lainnya dilepaskan untuk dihisap oleh perokok pasif (Rymski P, Pawel, & Opala, 2015). Asap rokok sampingan (*sidestream smoke*) merupakan asap hasil pembakaran dari ujung rokok, kemudian menyebar ke udara. Asap rokok sampingan mempunyai konsentrasi lebih tinggi daripada asap rokok utama karena tidak melalui proses penyaringan yang cukup. Hal ini dikarenakan tembakau yang terbakar pada suhu lebih rendah ketika rokok dihisap membuat pembakaran menjadi kurang sempurna sehingga mengeluarkan lebih banyak bahan kimia (Aditama T. Y., 2006).

Tar, Nikotin dan karbon monoksida merupakan tiga macam bahan kimia yang berbahaya dalam asap rokok. Tar dalam asap rokok yang masuk ke dalam saluran nafas sebagai uap padat asap rokok. Komponen Tar mengandung radikal bebas. Radikal bebas merupakan oksidan berbahaya karena memiliki electron yang tidak berpasangan sehingga cenderung menarik electron molekul lain. Akibatnya akan merusak komponen molekul dari sel (struktur dan fungsi membrane sel) antara lain mengakibatkan sel mati serta berpengaruh produksi hormon (Fitria, 2013).

Asap rokok mengandung 4800 macam senyawa kimia berbahaya dan salah satunya adalah radikal bebas (Valvanalidis A, 2009). Stres oksidatif merupakan suatu keadaan dimana tingkat *reactive oxygen species (ROS)* yang toksis dan

melebihi pertahanan endogen. Keadaan ini mengakibatkan berlebihnya radikal bebas, yang akan bereaksi dengan lemak, protein, asam nukleat seluler, sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu. Radikal bebas memiliki reaktivitas tinggi, karena kecenderungan menarik electron dan dapat mengubah suatu molekul menjadi radikal oleh karena hilangnya atau bertambahnya 1 elektron pada molekul lain. Radikal bebas menyebabkan kerusakan sel, gangguan fungsi sel, bahkan kematian sel. Molekul tubuh utama dalam tubuh yang dirusak oleh radikal bebas adalah DNA, lemak dan protein (Suryohudoyo, 2007).

Rokok adalah suatu olahan dari tembakau dengan menggunakan bahan tambahan ataupun tidak. Rokok dengan bahan tambahan disebut dengan rokok kretek sedangkan rokok yang tanpa bahan tambahan disebut rokok putih. Dalam proses merokok ada dua reaksi yaitu reaksi pembakaran dan reaksi pirolisa. Reaksi pembakaran dengan oksigen akan membentuk senyawa CO₂, H₂O₂, NO, SO, dan CO. Reaksi pirolisa adalah reaksi pemecahan struktur kimia menjadi banyak senyawa kimia dengan struktur yang kompleks (Fowles, 2000). Asap rokok masuk ke dalam saluran nafas. NOX adalah enzim yang berada pada semua membrane sel. Uap panas yang terkandung dalam asap rokok yang masuk ke dalam saluran nafas, kemudian akan bereaksi dengan NOX menjadi NADPH oksidase dan O₂⁻ (superoksida). Dengan bantuan SOD, maka radikal superoksid (O₂⁻) dikatalisis menjadi hydrogen peroksida (H₂O₂) dan oksigen (O₂). H₂O₂ oksidan bersifat sistemik yang bisa mempengaruhi semua sel di dalam tubuh (Gerd, 2006). H₂O₂ akan masuk ke pembuluh darah dan bereaksi dengan membran lipid, kemudian akan terjadi peroksidasi lipid membrane, sehingga menyebabkan kadar MDA dalam darah meningkat. Kadar MDA merupakan biomarker stress oksidatif, jika

kadar MDA meningkat menandakan bahwa di dalam sel terjadi stress oksidatif (Elzbieta, 2016).

Selain itu H₂O₂ di sistemik, menyebabkan ROS meningkat. ROS akan menyebabkan GnR protein berubah menjadi protein carbonyl. Protein carbonyl masuk ke proteasom, sehingga menyebabkan sekresi GnRH serum terhambat. Akibatnya sekresi FSH dan LH pun juga menurun. (Dunlop & Anderson, 2014).

H₂O₂ juga menembus organ ovarium, di ovarium terdapat folikel yang berperan untuk ovulasi. Di dalam folikel terdapat sel teka, sel granuosa dan sel oosit. Ketiga sel tersebut saling berkomunikasi dan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan folikel, yaitu dari folikel primordial menjadi folikel degraf. H₂O₂ yang meningkat akibat asap rokok akan menembus ovarium dan mempengaruhi sel teka. H₂O₂ yang meningkat menyebabkan stress oksidatif yang dapat memicu terjadinya apoptosis, namun apoptosis bisa dicegah oleh HSP 70. HSP 70 bertanggung jawab terhadap homeostasis sel. HSP berperan sebagai salah satu sarana untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan yang menyebabkan stress oksidatif seperti perubahan suhu, PH, radikal oksigen, dangangguan metabolisme. (Enzo Life Science, 2010).

H₂O₂ yang meningkat akibat asap rokok juga akan menembus ovarium dan mempengaruhi sel granulosa. Pada sel granulosa estrogen dihasilkan. Estrogen di dalam sel granulosa akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan oosit melalui aktivitas transkripsi oleh SMAD3 setelah aktivasi estrogen reseptor (Pang, 2016). H₂O₂ di dalam sel bisa merusak DNA, lemak dan protein. Smad 3 adalah protein yang memediasi aktivitas transkripsi estradiol di sel granulosa yang akan

mempengaruhi perkembangan oosit setelah aktivasi estrogen reseptor (Anttonen, 2014). Jika sintesis protein Smad 3 terhambat, maka tidak bisa mengaktivasi estrogen sehingga tidak bisa mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan sel granulosa, padahal sel granulosa merupakan salah satu sel yang berperan pada folikulogenesis. Jika sel granulosa tidak berkembang, maka folikulogenesis akan terganggu pula.

H₂O₂ juga akan mempengaruhi protein yang terdapat pada sel oosit. Pada oosit terdapat GDF-9 yang merupakan glikoprotein disekresi oleh oosit, dan faktor penting untuk pertumbuhan oosit, selain itu GDF9 mempunyai kemampuan untuk merangsang proliferasi sel granulosa. Kekurangan GDF-9 akan menyebabkan perkembangan folikel terhenti, tidak adanya sel teka di sekeliling folikel, serta berkurangnya kemampuan pembelahan miosis pada oosit. (Gilchrist, 2008).

Merokok juga dapat menyebabkan oksidasi glutation (GSH, antioksidan yang melindungi DNA dari kerusakan akibat ROS), menurunkan level antioksidan dalam darah, dan meningkatkan pelepasan radikal superoksida (Ziech, 2011). Apabila GSH rendah, dan GSSG meningkat, oksidan H₂O₂ meningkat, maka bisa merusak protein sel akan mengalami apoptosis (Tomoko, 2001). GSH berfungsi untuk anti apoptosis, apabila GSH rendah, maka BAX akan meningkat, Bcl2 menurun, Cyt c teroksidasi dan release, mengeluarkan caspase 9 dan caspase 3 terjadilah apoptosis. Tetapi apabila GSH tinggi, maka BCL2 meningkat maka cyt c tidak akan teroksidasi dan release sehingga tidak terjadi apoptosis.

Terdapat beberapa penelitian yang sudah dilakukan pengaruh asap rokok terhadap alat reproduksi, antara lain penelitian Febriyeni (2010) pemaparan asap

rokok selama 20 hari menunjukkan perubahan estrogen yang signifikan. Penelitian ini dilakukan pada tikus putih betina (*Rattus Norvegicus*) yang dibagi mejadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol(tidak diberi paparan asap rokok) sedangkan kelompok 1 (1 batang rokok kretek/hari), kelompok 2(2 batang rokok kretek/hari), kelompok 3 (3 batang rokok kretek/hari) selama 20 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan hormone estradiol dibandingkan dengan kelompok control(173pg/dl). Tetapi penurunan hormone estradiol tidak sebanding dengan dengan jumlah batang rokok yang diberikan selama 20 hari. (Febriyeni, 2010).

Penelitian lain dilakukan oleh Setiawati (2017), yaitu pengaruh paparan asap rokok terhadap kadar MDA, dengan rancangan *Randomized Control Group Post Test Only Design*. Per kelompok terdiri dari 9 tikus jantan *Rattus Norvegicus* yang dipapar asap rokok kretek non filter merek tertentu sebanyak 4 batang rokok per hari per 5 tikus dengan menggunakan alat smoking pump (1 batang rokok habis dalam 15 menit) dilakukan selama 2 minggu. Hasil penelitian didapatkan bahwa pemberian asap rokok dapat menurunkan kadar MDA pada tikus putih *Rattus Norvegicus* (Setiawati, 2017).

Penelitian Vidyasti (2018) , yaitu pengaruh paparan asap rokok terhadap jumlah kelenjar endometrium, dengan rancangan penelitian *Randomized Control Group Post Test Only Design*. Per kelompok terdiri dari 9 mencit betina *Mus Musculus* yang dipapar asap rokok kretek non filter merek tertentu sebanyak 1 batang rokok per hari per tikus dengan menggunakan alat smoking pump dilakukan selama 20 hari. Hasil analisis didapatkan perbedaan yang bermakna antara jumlah kelenjar endometrium antara kelompok control dan kelompok perlakuan dengan

rata-rata jumlah kelenjar endometrium tiap kelompok adalah kelompok kontrol = $19,77 \pm 2,43$ sedangkan kelompok perlakuan = $3,44 \pm 3,43$ (Vidyasti, 2018).

Dari hasil penelitian di atas belum ada penelitian yang menjelaskan pengaruh asap rokok terhadap folikulogenesis. Yaitu pada selteka, sel granulosa, dan sel oosit. Kunci pengatur pertumbuhan dan perkembangan folikel adalah : TGF-B(GDF9), SMAD, dan aktivin. Protein SMAD adalah faktor transkripsi dan subtract antar sel dari semua molekul TGFB (Huang, Wu, Su, Zhirnov, & Miller, 2001). Disini peneliti akan meneliti pengaruh asap rokok terhadap beberapa protein yang berperan penting dalam folikulogenesis, yaitu MDA, GnRH, HSP70, Smad 3, GDF9, serta apoptosis kemudian akan dilihat bagaimana keadaan folikel-folikel di ovarium. Sampai saat ini belum ada penelitian tentang mekanisme paparan asap rokok dapat menyebabkan gangguan folikulogenesis. Berdasarkan data tersebut, penulis tertarik untuk meneliti tentang mekanisme gangguan folikulogenesis melalui hewan model mencit betina terpapar asap rokok.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka peneliti merumuskan masalah:

1. Apakah paparan asap rokok dapat meningkatkan kadar MDA pada mencit betina *Mus musculus* Balb/c ?
2. Apakah paparan asap rokok dapat menurunkan kadar GnRH pada mencit betina *Mus musculus* Balb/c ?
3. Apakah paparan asap rokok dapat menurunkan ekspresi HSP 70 di sel teka pada mencit betina *Mus musculus* Balb/c ?

4. Apakah paparan asap rokok dapat menurunkan ekspresi Smad 3 di sel granulosa pada mencit betina *Mus musculus* Balb/c ?
5. Apakah paparan asap rokok dapat menurunkan ekspresi GDF 9 di oosit pada mencit betina *Mus musculus* Balb/c ?
6. Apakah paparan asap rokok dapat meningkatkan indeks apoptosis di sel teka pada mencit betina *Mus musculus* Balb/c ?
7. Apakah paparan asap rokok dapat meningkatkan indeks apoptosis di oosit pada mencit betina *Mus musculus* Balb/c ?
8. Apakah ada pengaruh paparan asap rokok terhadap gangguan folikulogenesis pada mencit *Mus musculus* Balb/c ?
9. Bagaimana Mekanisme gangguan folukologensis pada mencit terpapar asap rokok ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Untuk menjelaskan mekanisme gangguan folikulogenesis pada mencit betina terpapar asap rokok.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Menganalisis pengaruh paparan asap rokok terhadap peningkatan kadar MDA pada mencit *Mus musculus* Balb/c
2. Menganalisis pengaruh paparan asap rokok terhadap penurunan kadar GnRH pada mencit *Mus musculus* Balb/c
3. Menganalisis pengaruh paparan asap rokok terhadap penurunan ekspresi HSP 70 di sel teka pada mencit *Mus musculus* Balb/c

4. Menganalisis pengaruh paparan asap rokok terhadap penurunan ekspresi Smad 3 di sel granulosa pada mencit *Mus musculus* Balb/c
5. Menganalisis pengaruh paparan asap rokok terhadap penurunan ekspresi GDF9 di oosit pada mencit *Mus musculus* Balb/c
6. Menganalisis pengaruh paparan asap rokok terhadap peningkatan indeks apoptosis di sel teka pada mencit *Mus musculus* Balb/c
7. Menganalisis pengaruh paparan asap rokok terhadap peningkatan indeks apoptosis di oosit pada mencit *Mus musculus* Balb/c
8. Menganalisis pengaruh paparan asap rokok terhadap peningkatan gangguan folikulogenesis pada mencit betina *Mus Musculus* Balb/c
9. Menjelaskan mekanisme gangguan folikulogenesis pada mencit betina terpapar asap rokok.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Memberikan informasi dan pengetahuan baru tentang mekanisme gangguan folikulogenesis akibat paparan asap rokok sehingga mempengaruhi fertilitas.

1.4.2 Manfaat Praktis

Dapat dijadikan sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya bagaimana cara pencegahan gangguan folikulogenesis akibat paparan asap rokok.