

PERUBAHAN LEVEL INSULIN DAN PERKEMBANGAN *FOLLICLE* PADA TIKUS (*RATTUS NORVEGICUS*) SEBAGAI MODEL PENGOBATAN SOPK- RESISTENSI INSULIN MELALUI PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SAMBILOTO

Hany Puspita Aryani
Dosen Stikes Husada Jombang

ABSTRACT

SOPK is a disturbance in women reproduction periods with multifactorial etiology. One of the SOPK causes is insulin resistance that is the disruption of insulin action causing hyperinsulinemia¹. Sambiloto plant extract has certain content one of which is *Diterpen lactone* which can be used as diuretic. The content of sambiloto extract is thought to be able to stimulate insulin release and obstruct glucose absorption by obstructing *alphaglucoxidase* and *alpha-amylase* enzymes which will reduce glucose levels in blood. The objective of this study is to know the change in insulin content and the follicle development in mice as SOPK model – insulin resistance treated with sambiloto extract. The study was a laboratory experiment, with complete random sampling design. The control and experimental groups composed of 25 white mice (*Ratus norvegicus*) were randomly divided into 5 groups, with 5 mice in each group. Control groups (K) were K-, which was not treated, and K+, which was made as SOPK model, that is insulin resistance given testosterone propionate for 28 days. Experimental groups are divided into Group treated with sambiloto extract dosage of 18mg/100g body weight/day, Group treated with sambiloto extract dosage of 36mg/100g body weight/day, and Group treated with sambiloto extract dosage of 72mg/100g body weight/day. The last research is to known how is the insulin and follicles growth. The results of the study showed that the average of Anova test with the biggest value of 8000 was primary follicle in group K- and followed by groups P1 and P3 with sambiloto extract dosage of 18mg and 36 mg with the average of 6.8000. The result of normality test with oneway sample kolmogorov smirnov test showed that primary, secondary, tertiary, and de Graff follicles had the value $p > 0.05$. This could be concluded that the data had normal distribution. The LSD test showed significant difference between the development of primary follicles in control groups and in treated group with $p: 0.031$, and the development of de Graff follicles in control groups and in treated groups with $p: 0.002$. Therefore, it could be concluded that there was a significant relationship with the use of sambiloto extract. The giving of sambiloto extract proved to be able to increase the development of primary and de Graff follicles. With significant p value 0.031 and 0.002 where $p < 0.05$.

Keywords: sambiloto extract, insulin and development of follicles

A. PENDAHULUAN

Infertilitas menjadi masalah yang berat bagi pasangan masa reproduksi yang menginginkan kehamilan atau anak dan menjadi masalah yang berat apabila tidak mendapat penanganan yang tepat. Banyak hal yang dapat menyebabkan infertilitas, salah satunya diantaranya adalah *Sindroma Ovarium Polikistik* (SOPK). Kejadian infertilitas pada penderita SOPK cukup tinggi penyebab terbanyak kelainan endokrin yang melibatkan 5%-10% wanita dalam masa reproduksi.

SOPK juga berhubungan dengan Resistensi Insulin, obesitas, gangguan metabolic dan infertilitas. Terganggunya kerja insulin menyebabkan terjadinya hiperinsulinemia. Hiperinsulinemia menyebabkan peningkatan sekresi androgen di ovarium, yang disertai perkembangan folikel yang abnormal, yang menyebabkan gangguan fungsi ovarium¹, wanita dengan SOPK menunjukkan peningkatan hipertekosis stroma ovarium yang didiagnosa dengan ditemukannya pulau-pulau sel teka yang mengalami luteinisasi dalam stroma ovarium.

Perubahan morfologi ovarium lebih jelas terlihat pada SOPK yang resisten insulin, yang menunjukkan bahwa hiperinsulinemia mempengaruhi morfologi dan fungsi ovarium². Goldseher dan Young (1992) mengatakan bahwa pada SOPK didapatkan 20-50% mengalami resistensi insulin, menyatakan bahwa 80% dari SOPK diakibatkan oleh terjadinya resistensi insulin³.

Menurut *Sheehan et al* (2003) menyatakan bahwa peningkatan kadar testosterone dalam darah akan menyebabkan ratio *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) / *Luteinizing Hormone* (LH) terganggu dan bila kondisi ini dibiarkan tanpa penanganan segera akan menyebabkan sistik/ kista pada ovarium. Terjadi karena adanya hubungan umpan balik mekanisme dengan kadar estrogen yang selalu tinggi sehingga tidak pernah terjadi kenaikan yang cukup adekuat terhadap kadar FSH. Kenaikan kadar hormone LH merangsang sintesa androgen, sedangkan peningkatan kadar androstenedion di perifer di ubah menjadi estron. Kenaikan kadar testosterone akan menekan sekresi *Sex Hormone Binding Globulin* (SHBG) di hati, sedangkan kadar testosterone dan estradiol bebas meningkat. Kenaikan kadar estron dan estradiol akan memberikan umpan balik positif terhadap LH, sehingga kadar LH lebih meningkat lagi. Sedangkan kadar FSH tetap rendah tetapi masih terjadi pertumbuhan folikel, akibatnya terjadi penumpukan folikel kecil berjajar tetapi tidak membesar dan tidak ovulasi⁴.

Penelitian pendahuluan pemberian Testosteron Propionat (TP) selama 14 hari akan didapatkan suatu keadaan yang menyerupai SOPK dengan ciri-ciri tidak didapaknya corpus luteum, adanya ovarium polikistik, hipertekosis pada stroma serta penipisan/atresi sel granulosa. Pemberian TP selama 21 hari mulai didapatkan keadaan resistensi insulin. TP selama 28 hari yang lebih bermakna keadaan resistensi insulin. Keadaan hiperandrogen dapat mempengaruhi indeks resistensi insulin serta kadar asam lemak bebas di serum. Semakin lama paparan androgen yang diberikan, maka indeks resistensi insulin dan kadar asam lemak bebas akan meningkat⁵.

Sambiloto adalah salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat anti diabetes mellitus. Herbal dan percabangannya mengandung *diterpen lakton* yang terdiri dari *Andrografolide* (zat pahit)⁶. Ekstrak sambiloto dapat merangsang pelepasan insulin dan menghambat absorpsi glukosa melalui penghambatan enzim *alfaglukosidase* dan *alfa-amilase*. Enzim *glukosidase* (*maltase, isomerase, glukomerase dan sukrase*) berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida pada dinding usus halus sehingga inhibisi pada enzim ini dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya⁷. Dosis 2,0 g/ kg BB selama 14 hari ekstrak etanol herbal sambiloto merupakan kadar optimal yang dapat menurunkan kadar glukosa tikus⁸.

Sambiloto menjadi tren dalam penelitian dan digunakan sebagai obat yang dapat menurunkan kadar gula darah (antidiabetik). Berdasarkan penelitian sebelumnya dijelaskan ekstrak sambiloto dapat meningkatkan efektifitas receptor insulin, meningkatkan pengambilan transport glucose 'Ekstrak etanol herba sambiloto secara bermakna menurunkan glukosa darah mencit yang diinduksi dengan aloksan, artinya merangsang pelepasan insulin pada sel yang tidak rusak sempurna'⁷. 'Terlihat peningkatan ambilan glucose pada otot soleus tikus setelah mendapat sambiloto intravena berulang selama 3 hari dan terdapat peningkatan mRNA glucose transporter 4 (GLUT 4)⁷. Pada penelitian ini penulis berusaha memberikan terapi alternative lain yaitu ekstrak sambiloto sebagai herbal medicine dalam pengobatan SOPK- resistensi insulin yang biasanya menggunakan metformin. Mengingat akan etis penelitian ini menggunakan tikus sebagai hewan coba dalam penelitian ini.

B. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *randomized post test only control group design*. Digunakan hewan coba tikus *Rattus norvegicus strain wistar*

sebagai model SOPK menggantikan manusia untuk penelitian lebih invasif yang selama ini terhalang etis pada pelaksanaannya. Penelitian ini menggunakan injeksi testosteron propionat.

Hewan coba menggunakan tikus (*Ratus norvegicus*) dengan berat badan rata-rata 100 gram per ekor sebanyak 35 ekor yang dibagi menjadi lima kelompok terdiri atas satu kelompok kontrol negatif, satu kelompok kontrol positif dan tiga kelompok perlakuan. Untuk kelompok kontrol negatif tidak mendapat perlakuan, kelompok kontrol positif hanya dibuat model SOPK-RI. Semua kelompok perlakuan dibuat model SOPK-RI dan diberi injeksi intramuscular testosteron propionat 100 mg/kgBB selama 28 hari, selanjutnya hari ke 29-43 kelompok perlakuan (P1, P2, P3) diberikan ekstrak sambiloto dengan dosis 18, 36 dan 72 mg/kgBB yang dilarutkan dengan aquadest 1cc sedangkan kelompok kontrol negatif (K0) hanya diberikan aquadest. Semuanya diberikan sonde.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dari bulan Mei 2013 sampai Juli 2013.

1. Pembuatan Ekstrak Sambiloto

Ekstraksi sambiloto dengan menggunakan freeze dryer. Prosedurnya adalah tahap pertama : penyiapan bahan baku yang meliputi penyortiran, pencucian, penirisan dan penjemuran. Sambiloto yang sudah dicuci bersih ditiriskan diatas rak pengering. Setelah airnya ditiriskan, herba dikeringkan menggunakan alat pengering *fresh dryer* pada suhu 30 C. Tahap kedua : ekstraksi. Serbuk sambiloto hasil tahap pertama diekstrak selama 6 jam dengan menggunakan pelarut air dimana perbandingan bahan terhadap pelarut adalah 1:1. Setelah diekstrak, bahan didiamkan selama 24 jam, kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh filtrate (sari). Filtrat diuapkan dengan penguap berputar (rovator) pada suhu 40 C sampai pelarutnya sudah tidak menetes sehingga dihasilkan ekstrak kental. Tahap ketiga : pengolahan ekstrak kental menjadi ekstrak kering.

2. Injeksi Testosteron Propionat pada tikus

Testosteron propionate diinjeksi sebanyak 0.1 ml dilakukan secara intramuskular pada paha tikus setiap hari sekali dengan dosis 0,1 ml selama 28 hari⁶.

3. Pembuatan Preparat ovarium tikus

Pembuatan preparat ovarium dilakukan dengan langkah sebagai berikut: **Pertama** Tahap Fiksasi yaitu Pada tahap ini, ovarium difiksasi pada larutan formalin 10% selama 1 jam, diulang sebanyak 2 kali pada larutan yang berbeda, **Kedua** Tahap Dehidrasi yaitu Pada tahap ini, ovarium yang telah difiksasi kemudian didehidrasi pada larutan ethanol 70 % selama 1 jam, kemudian dipindahkan dalam larutan ethanol 80%, dilanjutkan kedalam larutan ethanol 95 % sebanyak 2 kali dan dalam ethanol absolut selama 1 jam dan diulang sebanyak 2 kali pada ethanol absolut yang berbeda, **Ketiga** Tahap Clearing (Penjernihan) yaitu Pada tahap ini, ovarium yang telah didehidratasi kemudian diclearing untuk menarik kadar ethanol dengan menggunakan larutan xylene I selama 1,5 jam dan dilanjutkan ke larutan *xylene* II selama 1,5 jam.

Keempat Tahap Embedding, yaitu Pada tahapan ini, ovarium dimasukkan kedalam kaset dan diinfiltrasi dengan menuangkan paraffin yang dicairkan pada suhu 60oC, kemudian paraffin dibiarkan mengeras dan dimasukkan ke dalam freezer selama \pm 1 jam, **Kelima** Tahap Sectioning (pemotongan) yaitu Pada tahapan ini, ovarium yang sudah mengeras dilepaskan dari kaset dan dipasang pada mikrotom kemudian dipotong setebal 5 micron dengan pisau mikrotom. Hasil potongan dimasukkan ke dalam water bath bersuhu 40oC untuk merentangkan hasil potongan, hasil potongan kemudian diambil dengan object glass dengan posisi tegak lurus dan dikeringkan, **Keenam** Tahap Staining (Pewarnaan) yaitu Hasil potongan diwarnai dengan *Hematoxilin eosin* (pewarnaan HE) melalui tahapan sebagai berikut :

Preparat direndam dalam larutan *xylene* I selama 10 menit, lalu preparat diambil dari *xylene* I dan direndam dalam larutan *xylene* II selama 5 menit, kemudian preparat diambil dari *xylene* II dan direndam dalam ethanol absolut selama 5 menit, lalu preparat diambil dari ethanol absolut dan direndam dalam ethanol 96 % selama 30 detik, preparat kemudian diambil dari ethanol 96% dan direndam dalam ethanol 50% selama 30 detik, lalu preparat diambil dari ethanol 50% dan direndam dalam running tap water selama 5 menit, lalu preparat diambil dari running tap water dan direndam dalam meyer hematoshirin selama 1-5 menit.

Preparat yang ada dalam meyer diambil dari larutan meyer dan direndam dalam running tap water selama 2-3 menit. lalu preparat diambil dari running tap water dan direndam dalam pewarna *eosin* selama 1-5 menit, lalu preparat diambil dari larutan eosin kemudian dimasukkan dalam ethanol 75 % selama 5 detik, kemudian dimasukkan ke dalam ethanol absolute selama 5 detik diulang 3 kali pada ethanol absolut yang berbeda, lalu preparat diambil dan direndam dalam *xylene* III selama 5 menit, kemudian dipindahkan dalam *xylene* IV selama 5 menit dan terakhir dipindahkan kedalam *xylene* V selama 10 menit, lalu preparat diangkat dan dikeringkan, kemudian yang terakhir preparat ditutup menggunakan deckglass..

4. Pemeriksaan Elisa

Pemeriksaan hormon menggunakan tehnik kompetitif dan *sandwich*. Metode kompetitif mempunyai prinsip sampel ditambahkan antigen yang berlabel dan tidak berlabel dan terjadi kompetisi membentuk kompleks yang terbatas dengan antibodi spesifik pada fase padat. Prinsip dasar dari *sandwich assay* adalah sampel yang mengandung antigen direaksikan dengan antibody spesifik pertama yang terikat dengan fase padat. Selanjutnya ditambahkan antibodi spesifik kedua yang berlabel enzim dan ditambahkan substrat dari enzim tersebut.

Prinsip ELISA : agar terjadi suatu reaksi warna pada ELISA, maka dibutuhkan suatu antibody yang dilabel enzim dan subtrat yang diberi indicator warna yang dikenal dengan kromogen.

Enzim yang digunakan untuk melabel antibody adalah *Horseadish geroksidase*. Pada ELISA bahan yang dideteksi sebelumnya harus ditempelkan pada fase padat (pada *microtiter well*). Bahan (Ag/Ab) dapat menempel pada *microtiter well* ini telah dilapisi dengan *polysterine / polyvinylchloride* (Aulanni'am,2004). Prinsip dasar ELISA terdiri dari a) Fase coating, b) Fase reaksi Ag-Ab, c) Fase reaksi kimiawi.

5. Analisis Data

Analisis data menggunakan *Multivariat Analisis Of Varian* (MANOVA).

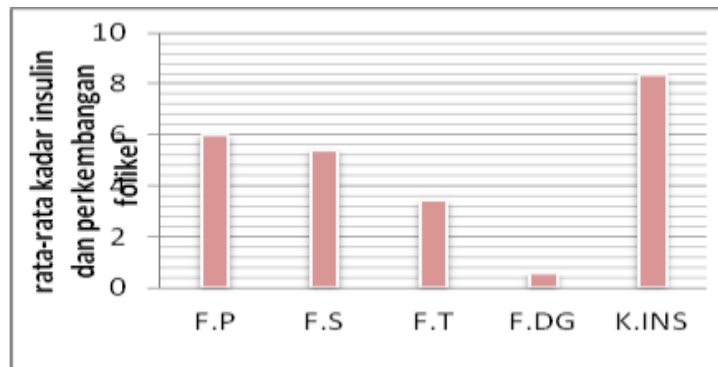
C. HASIL PENELITIAN

Data hasil penelitian diuji statistik menggunakan SPSS, hasil uji non parametrik *One Sample Kolmogrov-Smirnov* menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai $Z > 0,05$. Selanjutnya dilakukan uji *Multivariate Analyze of Variance* dengan nilai $p < 0,05$ pada variabel kadar insulin dan perkembangan folikel. Untuk variabel dengan nilai $p < 0,05$ dilakukan uji *Post Hoc Fisher's LSD* untuk menganalisis varians signifikan antar kelompok perlakuan.

1. Pengaruh Ekstrak Sambiloto terhadap Kadar Insulin dan Perkembangan Folikel pada tikus model SOPK-Resistensi insulin

Hasil pengukuran terhadap kadar insulin pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar di bawah. Pada gambar tersebut tampak bahwa rata-rata kadar insulin dan perkembangan folikel pada kelompok kadar insulin sebesar 8.36 ± 3.03 , sedangkan

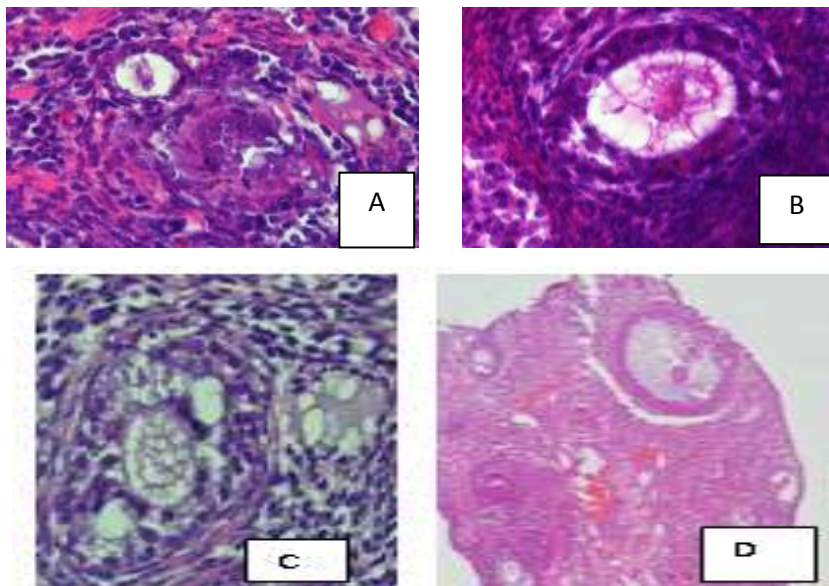
untuk kelompok perkembangan folikel primer adalah 6.00 ± 2.61 ; folikel sekunder 5.40 ± 2.72 ; folikel tersier 3.40 ± 1.93 dan folikel de graff 0.56 ± 1.15 .



Dari gambar tersebut tampak bahwa ekstrak sambiloto dapat kadar insulin dan perkembangan folikel dengan didapatkan dari uji normalitas berdistribusi normal yang kemudian dilanjutkan dengan uji Manova.

2. Pengaruh Ekstrak Sambiloto Terhadap Perkembangan Folikel tikus

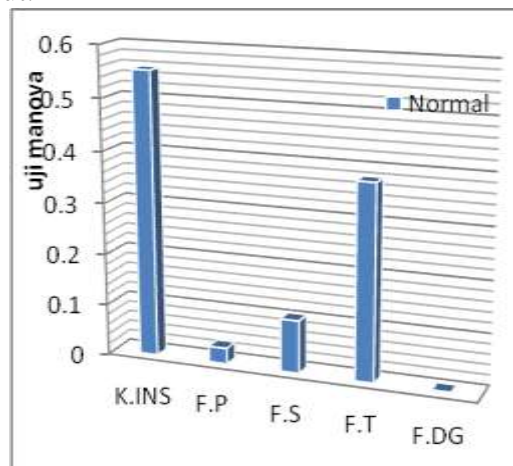
Gambar ini mewakili macam-macam gambar folikel dijumpai selama pengamatan.



Gambar 1 : folikel tikus

(a. Folikel Primer; b. Folikel Sekunder; c. Folikel Tersier; d. Folikel de Graff)

Gambar berikut yang memuat hasil penelitian ini menunjukkan hasil uji manova dapat dilihat pada gambar tersebut.

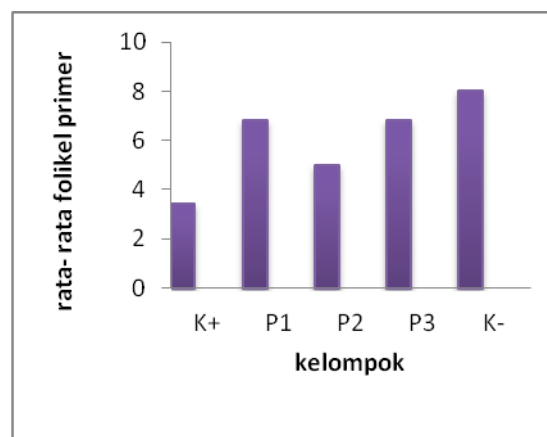


Gambar 2: Pengaruh ekstrak sambiloto dengan uji manova

Berdasarkan gambar di atas terlihat bahwa ekstrak sambiloto pada kadar insulin, perkembangan folikel sekunder dan tersier dengan nilai $p > 0.05$ sedangkan pada perkembangan folikel primer dan de Graff dengan nilai $p < 0.05$ pada kelompok control dan kelompok perlakuan. Yang mana untuk perkembangan folikel primer dan folikel de Graff memenuhi syarat untuk dilakukan uji anova dan Selanjutnya dilakukan uji komparasi ganda menggunakan *Least Square Difference* (LSD).

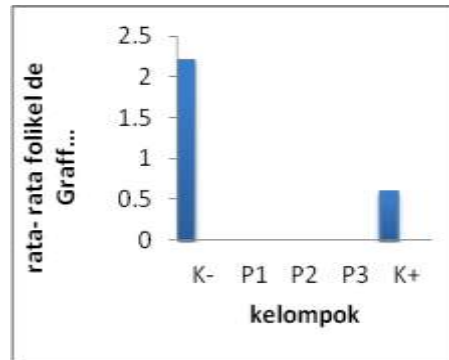
3. Hasil uji Anova

Uji anova dapat dilakukan apabila hasil dari uji manova $p < 0.05$.



Gambar 3: rata-rata uji anova perkembangan folikel primer

Gambar ini memperlihatkan bahwa menuju kearah kanan, dimana kelompok control negatif memiliki angka rata-rata lebih tinggi pada perkembangan folikel primer 8.00 ± 2.91 , diikuti rata-rata pada kelompok P1 dan P3 dengan nilai sama 6.80 ± 2.16 , lalu diikuti kelompok P2 dengan nilai rata-rata 5.00 ± 2.00 dan kelompok kontrol positif dengan nilai rata-rata 3.40 ± 1.67 .



Gambar 4 uji anova perkembangan folikel de Graff

Gambar ini memperlihatkan bahwa menuju kearah kiri, dimana kelompok control negatif memiliki angka rata- rata lebih tinggi pada perkembangan folikel de Graff 2.20 ± 1.64 , diikuti rata- rata pada kelompok kontrol positif dengan nilai rata- rata 0.60 ± 0.89 , dan untuk kelompok P1, P2 dan P3 dengan nilai sama 0.00 ± 0.00 .

D. PEMBAHASAN

1. Kadar Insulin

Hasil penelitian ini menyatakan bahwa Data kelompok ini dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hal ini diperlakukan untuk melihat efek yang terjadi selama 15 hari perlakuan. Didapatkan hasil dari uji Manova diperoleh nilai signifikansi 0.554 ($p > 0,05$) artinya tidak adanya perubahan yang nyata antara kadar insulin kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kadar insulin yang tidak ada perubahan bermakna, mengindikasikan kemungkinan ekstrak sambiloto belum dapat memperbaiki keadaan insulin dengan memiliki jumlah reseptor insulin kurang, yang mengakibatkan penurunan sensitivitas insulin sehingga menyebabkan terjadinya keadaan hiperinsulinemia. Dengan asumsi ekstrak sambiloto belum mampu memperbaiki keadaan kadar insulin.

Pernyataan tersebut mendukung hasil penelitian yang mengindikasikan Pada orang dengan resistensi insulin, kadar normal insulin tidak memiliki efek yang sama pada sel-sel otot dan adiposa, dengan hasil kadar glukosa tetap lebih tinggi dari biasanya. Untuk mengkompensasi hal ini, pankreas dalam individu resistensi insulin dirangsang untuk melepaskan lebih banyak insulin⁷.

Peningkatan ambilan glucose bukan disebabkan oleh peningkatan respon jaringan (otot, hati dan lemak) terhadap insulin, namun diduga terkait dengan peningkatan kadar insulin plasma. fenomena peningkatan insulin plasma akibat perangsangan yang berulang kali dan memicu respon proliferasi sel beta pankreas³.

Peningkatan kadar insulin terjadi akibat gangguan ambilan glucose jaringan (otot, hati, dan lemak). *Insulin receptor substrat-1 (IRS-1)* ditemukan mengalami degradasi pada saat kadar glukosa darah meningkat. IRS-1 mengalami fosforilasi oleh *Phospatydilinositol 3 kinase (PI-3 kinase)* pada kaki serine sehingga menjadi inaktif. Translokasi GLUT 4 menuju membrane menjadi terhambat dan mekanisme ambilan glucose otot yang diperantai insulin tidak berjalan⁸.

2. Perkembangan Folikel

Dari hasil analisa uji manova pada folikel primer diperoleh nilai signifikansi 0.031 ($p < 0,05$) artinya ada perubahan perkembangan folikel primer yang nyata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, yaitu kelompok P2 dan P1 < K-. Peningkatan jumlah folikel primer tersebut besar kemungkinan kandungan ekstrak sambiloto mampu meningkatkan jumlah folikel primer dengan memperbaiki keadaan reproduksi dengan asumsi dapat menjaga kualitas sel granulosa. Ekstrak sambiloto mengandung bahan aktif saponin. Dalam kajian fertilitas, komposisi diterpen lactone atau saponin ini sangat dibutuhkan untuk melindungi sel-sel granulosa. Hal tersebut sesuai dalam penelitian menyatakan bahwa bahan aktif yang terkandung dalam *Centella asiatica* (L.) terutama dari golongan triterpenoid (diterpen lactone) juga penting untuk penjagaan kualitas sel-sel granulosa, yang selanjutnya sel-sel granulosa ini sangat dibutuhkan untuk menjaga kualitas sel telur.

Sebagaimana yang dinyatakan oleh Suheimi (2007), bahwa reseptor FSH hanya ditemukan di sel-sel granulosa yang penting untuk mengendalikan perkembangan folikel. Selain FSH sebagai regulator utama perkembangan folikel dominan, growth faktor yang dihasilkan oleh folikel dapat bekerja melalui mekanisme autokrin dan parakrin, memodulasi kerja FSH, dan menjadi faktor penting yang berpengaruh. yang mana sel granulosa ini sangat di butuhkan untuk menjaga sel telur yang membentuk sel jaringan pengikat di dalam korteks ovarium yang menjadi tempat berkembangnya folikel. Dan bahwa sel granulosa terdapat reseptor hormon FSH dan LH yang dibutuhkan untuk perkembangan folikel (Suheimi 2007).

Folikel sekunder didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.103 ($p > 0,05$) dan folikel tersier diperoleh nilai signifikansi sebesar 0.378 ($p > 0,05$) dari uji manova artinya tidak ada pengaruh perubahan yang nyata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Di sebabkan mekanisme yang mengendalikan dan mengawali proses pertumbuhan folikel sekunder. Dengan asumsi pemberian ekstrak sambiloto selama 4 siklus tidak memperbaiki keadaan insulin dan keadaan reproduksinya. Yang tercapai hanya keadaan resistensi insulin. Dengan keadaan seperti itu berarti resistensi insulin menurunkan SHBG dan mensekresi androgen berlebih, menekan FSH dan tidak terjadi aromatisasi yang dapat menghambat pertumbuhan folikel.

Pertumbuhan folikel dipengaruhi kadar FSH yang ada di dalam ovarium, sehingga folikel primer, sekunder dan tersier dapat berkembang dengan baik. Hal ini dapat dipahami karena pada saat awal perkembangan folikel diperlukan FSH dalam jumlah yang cukup untuk mendorong perkembangan folikel menuju fase selanjutnya. (Kiptiyah,2002).

Folikel de Graff dari hasil uji manova diperoleh nilai signifikansi 0,002 ($p < 0,05$) artinya ada pengaruh yang nyata. Folikel de Graff merupakan bentuk akhir dari perkembangan folikel ovarium. Oosit dalam folikel de Graff dibungkus oleh massa sel yang disebut cumulus oophorus membungkusnya menonjol ke dalam ruang antrum yang penuh dengan cairan folikel (Partodiharjo,1992).

Kemungkinan besar berdasarkan pada data hasil penelitian, kadar estrogen yang rendah tetapi harus meningkat tersebut menghambat sekresi FSH, yang menurun selama bagian terakhir fase folikel, dan secara inkomplit menekan sekresi LH yang terus meningkat selama fase folikel. Pada saat pengeluaran estrogen mencapai puncaknya, kadar estrogen yang tinggi memicu lonjakan sekresi LH pada pertengahan siklus. Lonjakan LH, menyebabkan ovulasi yang matang. Dimana didapatkan terjadinya penurunan jumlah dari folikel de Graff, besar kemungkinan hal tersebut yang menyebabkan sudah terlewati ovulasi yang mengakibatkan

gambaran folikel de Graaf tidak di dapatkan dengan didapatkan jumlah korpus luteum yang lebih tinggi dibandingkan folikel de Graff.

E. KESIMPULAN

1. Pemberian ekstrak sambiloto tidak memberikan perubahan signifikan kadar insulin 0.554 ($p > 0.05$) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.
2. Pemberian ekstrak sambiloto memberikan perubahan perkembangan folikel pada folikel primer sebesar 0.031 ($p < 0.05$) dan folikel de Graff sebesar 0.002 ($p < 0.05$) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

F. SARAN

Berdasarkan dari hasil penelitian, maka disarankan untuk di lakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan dosis lebih tinggi atau waktu pemberian yang lebih lama sehingga dapat memperbaiki keadaan kadar insulin dan keadaan reproduksinya

DAFTAR PUSTAKA

- Dunaif A. 1996. 'Finegood DT. B Cell Dysfunction Independent of Obesity and Glucose Intolerance in The Polycystic Ovary Syndrome'. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. Vol. 51: 3; 942-7
- Dunaif A. 1989. Segal KR, Futterweit W. 'Profound peripheral Insulin Resistenace, Independent of Obesity'. in *Polycystic Ovary syndrome. Diabetes: 57*
- Gonzales C et al. 2000. *Role of 17 B estradiol and / or progesterone on insulin sensitivity in the rat: implication during pregnancy*. *Journal of Endokrinology* 166,283-291.
- Lobo RA. 1996. 'Unifying Concept for Polycystic Ovary Syndrome. In : Chang RJ, Plycistic Ovary Syndrome'. *Serono Symposia USA Inc. Massachusetts.:* 334 – 52
- Samsulhadi. 2002. 'Obesitas dan Kesehatan Reproduksi Wanita' (Aplikasi Klinis berbasis moleculer) Dalam Tjokroprawiro A, Hendromartono,Sutjahyo Ari,Tandra A.*National Obesity Simposium I*,Hal 75-83
- Santoso B, Widjiati and Muttaqin DA. 2008. *Jurnal Pengaruh Lama Paparan Androgen terhadap Indeks Resistensi Insulin dan Kadar Asam Lemak Bebas pada Serum Tikus Model Sindroma Ovarium Polikistik*
- Sudarsono, Pudjoarinto A, Gunawan D, Wahyuono S, Donatus IA, Drajad M, Wibowo S, Ngatidjan. 2006, *Tumbuhan Obat I*. Pusat Penelitian Obat Tradisional, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Hal 25-28
- Subramanian R, Asmawi MZ, Sadikun A. 2008. 'In vitro alpha-glucosidase and alphaamylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide'. *Acta, J. Biochem. Pol.*,55(2):391-398
- Shao J et al, 2004. Physical Activity / Exercise and Type 2 Diabetes. *Diabetic Care* 27 (10): 2518- 2539
- Yulinah E, Sukrasno, Fitri MA. 2011, 'Aktivitas Antidiabetika Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees (Acanthaceae)'. *JMS ITB* Vol. 6