

**PENGARUH DEPO MEDROKSI PROGESTERON ASETAT (DMPA)  
TERHADAP EKSPRESI *ESTROGEN RECEPTOR- $\alpha$*  (*ER- $\alpha$* ) PADA  
ENDOMETRIUM TIKUS (*Rattus Novergicus*) YANG DIPAPAR**

*Effect of Acetic Progesteron Depo Medical (DMPA) On Expression of Receptor- $\alpha$  (*ER- $\alpha$* ) Estrogen In The Exposed Rated Endometrium (*Rattus Novergicus*)*

**Rizki Fitrianingtyas<sup>1</sup>, Ernawati Anggreni<sup>2</sup>**

<sup>1,2</sup> Akbid dr.soebandi Jember

Jl. dr. Soebandi No. 99, Patrang, Cangkring  
Kabupaten Jember, Jawa Timur 68111

**ABSTRAK**

Salah satu metode kontrasepsi yang dianggap cukup ideal adalah kontrasepsi suntik Depo Medroksiprogesteron Asetat (DMPA). Kontrasepsi suntik DMPA ini adalah salah satu jenis kontrasepsi suntikan yang hanya mengandung progestin saja dan disuntikkan setiap tiga bulan. Perempuan yang telah menggunakan DMPA selama suntikan pertama dan kedua mempunyai histologi endometrium yang atrofi, penurunan kepadatan microvaskuler, epitelium menjadi tipis, mengecilnya kelenjar dan meluas, dinding pembuluh darah yang tipis. Rata-rata 60 % mantan akseptor sudah hamil dalam waktu 1 tahun dan lebih dari 90 % dalam waktu 2 tahun. Tujuan Penelitian ini untuk membuktikan apakah DMPA dapat mempengaruhi Ekspresi *Estrogen Receptor- $\alpha$*  (*ER- $\alpha$* ) Pada endometrium Tikus (*Rattus Novergicus*). Penelitian ini menggunakan *true experiment* dengan rancangan *randomized post test control group design* menggunakan 30 ekor tikus betina yang dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok kontrol negatif, kelompok P1 (Pemberian DMPA selama 1 bulan, kelompok P2 (DMPA selama 2 bulan). Ekspresi *ER- $\alpha$*  diamati dengan menggunakan metode *immunohistochemistry*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat peningkatan dan berbeda secara signifikan ( $p$  value > 0,05) Ekspresi *Estrogen Receptor- $\alpha$*  (*ER- $\alpha$* ) terhadap kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2.. Penelitian ini menyimpulkan bahwa pemberian suntikan DMPA mampu menurunkan Ekspresi *Estrogen Receptor- $\alpha$*  (*ER- $\alpha$* ).

**Kata Kunci : DMPA, Ekspresi *ER- $\alpha$* ,**

**ABSTRACT**

One method of contraception that is considered ideal is injectable contraception Depo Medroxyprogesterone Acetate (DMPA). This DMPA injection contraception is one type of contraceptive injection that only contains progestin only and is injected every three months. Women who had used DMPA during the first and second injections had atrophy histology, decreased microvascular density, thin epithelium, reduced glands and expanded, thin blood vessel walls. An average of 60% of former acceptors are already pregnant within 1 year and more than 90% within 2 years. The purpose of this study is to prove whether DMPA can affect *Estrogen Receptor- $\alpha$*  (*ER- $\alpha$* ) Expression in the rat endometrium (*Rattus Novergicus*). This study used a true experiment with a randomized post test group control group design using 30 female rats divided into 3 groups. Negative control group, group P1 (administration of DMPA for 1 month, group P2 (DMPA for 2 months). *ER- $\alpha$*  expression was observed using the immunohistochemical method. The results showed that there was a significant difference ( $p$  value > 0.05). ) *Estrogen Receptor- $\alpha$*  (*ER- $\alpha$* ) expression against treatment group 1 and treatment 2. This study concluded that administration of DMPA injections was able to reduce *Estrogen Receptor- $\alpha$*  (*ER- $\alpha$* ) Expression.

**Keywords: DMPA, *ER- $\alpha$*  expression,**

**PENDAHULUAN**

Salah satu metode kontrasepsi yang dianggap cukup ideal adalah kontrasepsi suntik Depo Medroksiprogesteron Asetat (DMPA). Kontrasepsi suntik DMPA ini adalah salah satu jenis kontrasepsi suntikan yang hanya

mengandung progestin saja dan disuntikkan setiap tiga bulan. Kontrasepsi suntik DMPA ini cukup aman dan sangat efektif dalam mencegah kehamilan apabila penyuntikannya dilakukan secara teratur sesuai jadwal yang telah ditentukan. Tingkat efektivitasnya cukup tinggi yaitu 0,3 kehamilan per 100 perempuan. Cara

kerjanya diantaranya adalah mencegah ovulasi, mengentalkan lendir serviks sehingga menurunkan kemampuan penetrasi sperma, menjadikan selaput lendir rahim tipis dan atrofi serta menghambat transportasi gamet oleh tuba [1]. Suntikan DMPA 150 mg dianggap tidak efektif lagi bagi sebagai kontrasepsi setelah 90 hari, tetapi pada kebanyakan akseptor, DMPA mencegah kehamilan untuk jangka waktu yang lama. Lamanya masa tidak subur/infertil mungkin tergantung pada kecepatan metabolisme DMPA dan juga pada berat badan akseptor[2]. Pemberian progesteron secara sistemik dan untuk jangka waktu yang lama menyebabkan endometrium mengalami keadaan "istirahat" [2]. Perempuan yang telah menggunakan DMPA selama suntikan pertama dan kedua mempunyai histologi endometrium yang atrofi, penurunan kepadatan microvaskuler, epitelium menjadi tipis, mengecilnya kelenjar dan meluas, dinding pembuluh darah yang tipis. Penurunan kepadatan ketebalan endometrium sebelum dan sesudah penggunaan DMPA[3]. Akseptor yang telah menggunakan DMPA menginginkan segera hamil pasca berhenti, tetapi perlu menunggu 1-2 tahun karena menyesuaikan dengan keadaan endometrium dan ovarium yang beberapa waktu dalam keadaan istirahat. Lebih dari 60 % mantan akseptor sudah hamil dalam waktu 1 tahun dan lebih dari 90 % dalam waktu 2 tahun[2].

Estrogen menggunakan efeknya melalui interaksi dengan reseptor yang merupakan anggota superfamili reseptor nukleus. Ada dua reseptor estrogen yang berbeda, yaitu ER  $\alpha$  dan  $\beta$  yang merupakan produk gen yang terpisah. ER  $\alpha$ , reseptor pertama yang ditemukan, terdapat disaluran reproduksi perempuan dalam jumlah yang melimpah terutama di uterus, vagina dan ovarium demikian pula dikelenjar mammae, hipotalamus, sel-sel endotel dan otot polos vaskuler. Berkurangnya produksi hormon estrogen yang dihasilkan oleh ovarium menyebabkan gangguan integritas reseptor estrogen di uterus yang menyusun proliferasi dinding endometrium. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa DMPA mempunyai efek menurunkan Ekspresi reseptor  $\alpha$  pada endometrium pada tikus.

## METODE PENELITIAN

### 1.1 Hewan coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) usia 9-12 minggu jenis kelamin betina. Banyaknya sampel adalah 30 ekor tikus yang dibedakan menjadi 3

kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol negative (KN), Perlakuan 1(diberikan DMPA selama 1 bulan), Perlakuan 2 (diberikan suntikan DMPA selama 2 bulan). Tikus diaklimatisasi selama 7 hari dan diberikan perlakuan sesuai kelompok. Pemberian suntikan DMPA diberikan secara Intramuscular. Perlakuan diberikan selama 28 dan 56 hari sedangkan suntikan DMPA diberikan 7 hari sekali. Setiap seminggu sekali dilakukan penimbangan, makan dan minum diberikan setiap hari dan sekam diganti 2 kali seminggu.

### 1.2 Etik

Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Universitas Brawijaya dan telah mengikuti prosedur dari laboratorium yang digunakan untuk penelitian menggunakan hewan coba.

### 1.3 Pemberian DMPA

DMPA yang diberikan adalah 2,7 mg yang diencerkan dalam 0,2 ml aquabidest. Disuntikkan setiap 7 hari sekali pada pukul 13.00 WIB.

### 1.4 Pengorbanan tikus

Tikus dikorbankan dengan cara diinjeksikan ketamin sebanyak 1-2 mg/tikus dan ditunggu beberapa menit sampai tikus benar-benar mati (tidak bergerak lagi).

### 1.5 Pengukuran reseptor estrogen $\alpha$

Untuk melihat ekspresi estrogen  $\alpha$  menggunakan metode immunohistokimia (IHK). Slide dideparafin menggunakan xylol dan kemudian dilakukan hidrasi menggunakan alkohol dan dibilas menggunakan air mengalir. Slide dicelupkan dalam *buffer sitrat* dengan pH 6 dan dipanaskan dalam waterbath pada temperatur 95  $^{\circ}$ C selama 20 menit. Setelah itu slide dibloking menggunakan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% dalam metanol selama 15 menit (*endogenous blocking*), kemudian dicuci dengan PBS dan di bloking kembali menggunakan *sniper* dan diinkubasi selama 60 menit. Selanjutnya, antibodi primer (estrogen receptor  $\alpha$ ) ditambahkan dalam PBS + BSA 0,2% dan diinkubasi overnight dalam suhu 4 $^{\circ}$ C. Satu per satu sli, kemudian diinkubasi menggunakan *biotinylated universal secondary antibody* selama 60 menit dalam suhu ruang. Inkubasi SA-HRP (*Streptavidin Horseradish Peroxidase*) selama 40 menit dalam suhu ruang, dan kemudian menambahkan DAB (Diaminobenzidine) dengan perbandingan dari DAB chromagen : DAB buffer =1:50 selama 20 menit). Setelah itu slide dicuci menggunakan

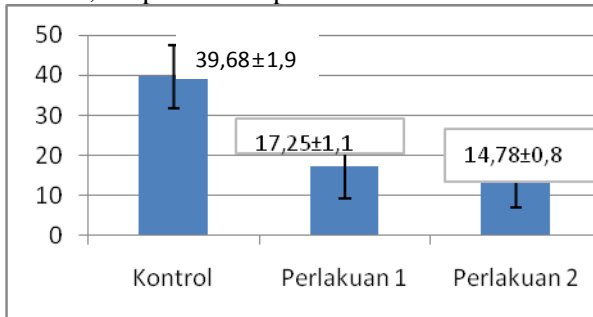
PBS, setelah itu *couterstained* dengan *Mayer's Hematoxilin* selama 5-10 menit pada suhu ruang. Slide diangin anginkan lalu ditetesi dengan entelan dan ditutup dengan coverglass. Hasilnya diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x dan untuk mengihung persentasenya menggunakan foto *dotslide software OLYMPUS* dan perhitungan persentasi menggunakan *software immunoratio*.

### 1.6 Analisis statistik

Data disajikan dalam bentuk rata-rata dan standar deviasi. Kemudian dianalisis normalitas dan honogenitas data. Uji beda menggunakan one way ANOVA dan uji regresi sederhana dengan kriteria pengambilan keputusan  $P < 0,05$  maka ada perbedaan yang signifikan. Semua uji menggunakan perhitungan SPSS for Windows 17.0.

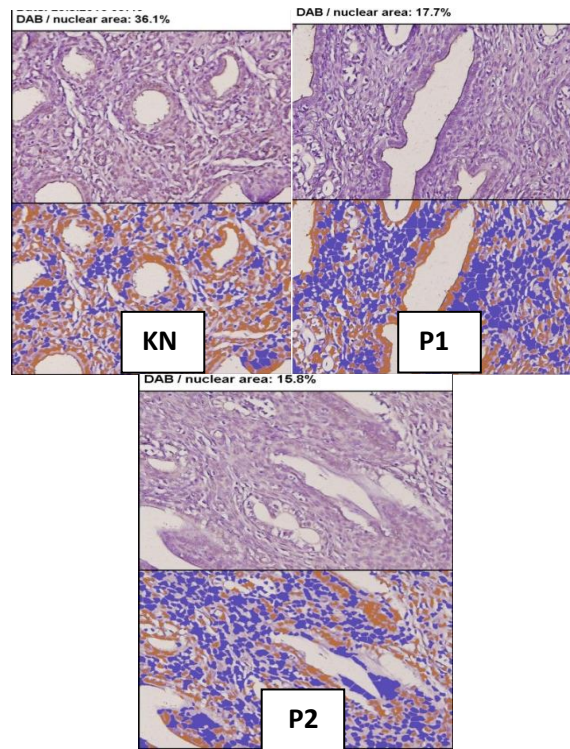
## HASIL

Pada Gambar 1 menunjukkan bahwa rata-rata Ekspresi paling rendah ditunjukkan pada kelompok Perlakuan 2 dan berbeda secara signifikan dibandingkan dengan KN dan perlakuan 1 dengan  $p \text{ value} \geq 0,05$ . Pada uji regresi untuk memprediksi ekspresi ER- $\alpha$  diperoleh pengaruh lama paparan DMPA terhadap ER- $\alpha$  adalah 90,1% dan mempunyai nilai persamaan  $Y = 3,56 - 0,65x$  yang mempunyai arti bahwa semakin lama paparan DMPA, ekspresi ER alpha semakin menurun..



**Gambar 1: Rata-rata Ekspresi Estrogen Receptor  $\alpha$  pada tikus yang diberikan DPMA.**

Keterangan : Hitungan rata-rata ER  $\alpha$  berdasarkan kelompok Tikus Kontrol Negatif (KN), Perlakuan 1, perlakuan 2. Pada rata-rata  $\pm$  sd jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna ( $p \leq 0,05$ ) dan jika memuat huruf yang sama berarti ada perbedaan tetapi tidak bermakna ( $p \geq 0,05$ ).



**Gambar 2. Hasil Pengamatan Ekspresi ER- $\alpha$  di inti sel.**

Warna coklat menunjukkan Ekspresi ER- $\alpha$  di inti sel (ditunjuk oleh tanda panah). Tampak perbedaan distribusi ER- $\alpha$  pada kelompok KN, P1, P2, dengan menggunakan metode *Immunohistochemia (IHC)* dengan pengamatan menggunakan pembesaran 400x menggunakan *mikroskop OLYMPUS DP71*.

## KESIMPULAN

Penelitian yang dilakukan pada 70 wanita yang menjadi akseptor DMPA dengan rentang usia 20-35 tahun didapatkan bahwa penggunaan DMPA akan menurunkan kadar estrogen serum dengan rata-rata  $< 130$  pg/ml pada pemakaian lebih dari satu tahun, penurunan menjadi  $< 100$  pg/ml. Penurunan kadar estrogen sering terjadi dengan lamanya penggunaan DMPA. Kadar ini sama dengan kadar estrogen pada fase folikuler siklus menstruasi [7]. Setelah penyuntikan DMPA, dalam waktu 24 jam kadarnya dalam serum mencapai 2-5  $\mu\text{g/ml}$ . Dan kadarnya bertahan cukup lama dan turun perlahan-lahan [8].

Pada penelitian ini menunjukkan bahwa tikus yang dipapar DMPA mempunyai ketebalan endometrium yang tipis. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa Penggunaan KB suntik (Progestin only) menunjukkan penurunan kepadatan

vaskularisasi endometrium sehingga menjadi atrofi dan terjadi aminore [3].

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa gen ER- $\alpha$  mempunyai penurunan ekspresi dalam endometrium yang tipis selama menstruasi. Polimorfisme dari intron insisi enzim yang pertama (identifikasi dan pembedahan spesifik dari untaian DNA dari endonucleus), PvuII (IVSI-397T>C, rs2234693) or XbaI (IVS1-351A>G,rs9340799), dalam gen ER- $\alpha$  berfungsi sebagai pengalihan ekspresi gen [10]. Baik estradiol dan ER- $\alpha$  adalah faktor yang mempengaruhi hiperplasia pada endometrium [11][10][12]. Estrogen bekerja dengan reseptor untuk menimbulkan efek karena ER sebagai penghubung fisiologis efek pada endometrium [13]. Ekspresi dari ER- $\alpha$  menurun di endometrium yang tipis dibandingkan dengan normal endometrium, dan mungkin ER- $\alpha$  berhubungan dengan etiologi yang tidak diketahui pada endometrium yang tipis [14]. Berkurangnya produksi hormon estrogen yang dihasilkan oleh ovarium menyebabkan gangguan integritas reseptor estrogen di uterus yang dominan adalah reseptor estrogen  $\alpha$  untuk menyusun proliferasi lapisan dinding endometrium. Efek estrogen akan meningkatkan konsentrasi reseptor estrogen  $\alpha$  pada organ reproduksi salah satunya endometrium [24].

Penggunaan DMPA meningkatkan apoptosis tidak hanya dalam ovarium tetapi juga di dalam endometrium. DMPA menyebabkan efek pada endometrium menjadi tipis dan atropik. Hal ini dikarenakan terhambatnya ekspresi eNOS (*endotelial nitric oxide synthase*) sehingga level eNOS dalam sel dan sitoplasma rendah sehingga terjadi apoptosis pada endometrium dan ovarium [9]. Pada penelitian yang dilakukan pada manusia difinisi endometrium tipis adalah berkisar 6-9 mm [15]. Tipisnya endometrium berkisar antara range 5 sampai 10 mm, bervariasi tergantung pada masing masing siklus. Pernyataan ini masih kontroversi dimana untuk memberikan definisi antara normal endometrium dan endometrium yang tipis [16][15][17][18]. Pada penelitian lain difinisi endometrium tipis adalah berkisar 6-9 mm [15]. Endometrium yang tebalnya kurang dari 6 mm menunjukkan kepastian terjadinya infertil [19].

Estrogen harus menembus permukaan sel masuk kedalam sel (sitoplasma) kemudian berikatan dengan reseptor estrogen. Sitoplasma

yang membentuk ikatan hormon reseptor pada *Estrogen Respon Elemen* (ERE) kemudian bergerak menuju inti sel untuk berikatan dengan DNA. Reseptor estrogen yang telah berikatan dengan DNA berperan dalam transkripsi sel untuk membentuk protein yang diperlukan dalam pembelahan sel [22]. Keadaan dimana estrogen tinggi, genestein akan berikatan dengan RE- $\alpha$  walaupun lemah, hal ini bertujuan agar ikatan antara Reseptor dan estradiol terhalang (bersifat anti estrogenik), tetapi jika kadar estrogen rendah maka genestein akan berikatan dengan ER yang kosong sehingga menimbulkan efek estrogenik. Berbeda halnya dengan RE paling kuat yaitu estradiol, yang berikatan dengan kedua reseptor sama kuatnya [23].

Penelitian ini menunjukkan semakin lama pemberian DMPA mampu menurunkan ekspresi ER- $\alpha$  sehingga dapat menyebabkan peningkatan efek samping akibat penurunan ER- $\alpha$ .

## SARAN

Data ini menunjukkan bahwa semakin lama paparan DMPA maka Ekspresi ER- $\alpha$  semakin menurun sehingga diharapkan efek samping dari penggunaan DMPA yang terlalu lama bisa di minimalisir.

## KEPUSTAKAAN

- [1]. Syaifudin A.B. 2007. Buku Panduan Praktis Pelayanan Kontrasepsi. Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. Jakarta
- [2]. Hartanto H. 2004. Macam-Macam Metode KB. Jakarta: EGC
- [3]. Simbar M.,. A comparative study of Cyclofem and depot medroxyprogeston acetate (DMPA) effect on endometrial Vasculature. *J Fam Plann Reprod Health Care* 2007. **33** (4): 271-276
- [4]. Rozman KK., 2006. Center For The Evaluation of Risk To Human Reproduction. National Toxicology Program 2006: 4
- [5]. Trustinah, 1998. Biologi Kacang Tunggak. Monograf Balittan. Malang. Pp. 1-19

- [6]. Prawiroharjo, S. 2007. Ilmu Kebidanan cetakan ke-9. Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. Jakarta
- [7]. Pamuji E., Basuki D., M. Hakimi. Association between bleeding pattern and estradiol level of depot medroxy progesteron acetat users. *Berita Kedokteran Masyarakat* 2008. **24**(2):51-57
- [8]. Baziad, A. 2002. Kontrasepsi Hormonal. Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. Jakarta
- [9]. Veri, N., Fivi A., Retty R., Dwi Yuni NH., Noorhamdani, Pande MD., Protective effect of green tea against ovarian and endometrial apoptoes in rats treated ith depot medroxyprogesteron acetate. *Biomakers and Genomic Medicine* 2015 **(7)**;105- 109.
- [10]. Mylonas I, Makovitzky J, Friese K, Jeshke U: Immunohistochemical labelling of steoid receptors in normal and malignant human endometrium. *Acta Histochem* 2009;111:349-359
- [11]. Sant'Ana de Almeida EC, Nogueira AA, Candido do Reis FJ, Zambelli Ramalho LN, Zucoloto S., Immunohistochemical expression of estrogen and progesteron receptors in endometrial polyps and adjacent endometrium in postmenapouse woman. *Maturitas* 2004;49:229-233
- [12]. Gul A, Ugur m, Iskander C, Zulfikaroglu E, Ozaksit G. Immunohistochemical expression of estrogen and progesteron receptors in endometrial polyps and its relationship to clinical parameters. *Arch Gynecol Obstet* 2010; 281: 479-483
- [13]. Hernandez J, Balic I, Johnson-Pais T.L., Higgins B.A., Torkko K.C., Thompson IM., Leach RJ: Association between an estrogen receptor gene polymorphism and the risk of prostate cancer in black men. *J Urol* 2016 **(175)**: 523–527
- [14]. Rui Y., Ai-Wen Le. A Study on the Estrogen Reseptor  $\alpha$  Gene Polymorphism and Its Espression in Thin Endometrium Of Unknown Etioly. *Gynecol Obstet Invest* 2012 . **(74)**; 13-20
- [15]. Kovacs P., Matyas S., Boda K., Kaali S.G. The Effect Of Endometrial Thickness On IVF/ICSI Outcome. *Hum Reprod* 2003 **(18)**: 2337–2341.
- [16]. Richter K.S., Bugge K.R., Bromer J.G., Levy M.J.. Relationship between Endometrial Thickness and Embrio Implantation, Based on , 294 cycle of In Vitro Fertilization with Transfer of Blastocyst-stage Embryos. *Fertil Steril* 2007 **(87)**; 53-59
- [17]. De Geyter C., Schmitter M., De Geyter M., Nieschlag E., Holzgreve W., Schneider Hp: Prospective Evaluation Of The Ultrasound Appearance Of The Endometrium In A Cohort Of 1,186 Infertile Women. *Fertil Steril* 2000. **1**(73):106–113.
- [18]. Friedler S., Schenker Jg., Herman A., Lewin A., The Role Of Ultrasonography In The Evaluation Of Endometrial Receptivity Following Assisted Reproductive Treatments: A Critical Review. *Hum Reprod Update* 1996(2): 323–335.
- [19]. Shapiro H., Cowell C., Casper R.F.. The use of vaginal ultrasound for monitoring endometrial preparation in a donor oocyte program. *Fertil Steril* 1993 .**(59)**: 1055–1058.
- [20]. Anggrani, W., Rahardjo, T., Ichramsjah, A., And Muchtadi, D., Pengaruh Isoflavon Kedelai terhadap Deplesi Estrogen pada tikus Betina *Sprague Dawley*. *Majalah Kedokteran Gigi* 2008. **23**(2): 73-78
- [21]. Soehartono., Wiyasa, I., dan Norahmawati, E. 2008. Pengaruh isoflavon genestein dan daidzein ekstrak tokbi (*Pueraria Lobata*) starin kangean terhadap jumlah osteoblas dan osteoklas *Rattus Novergiucus galur wistar hipoestrogenik*. UNAIR. Surabaya. *Majalah Obstetri dan Ginekologi*. 148
- [22]. Spreroff, L. 2003. Pedoman Klinis Kontrasepsi. Jakarta: EGC

- [23].Cooke, P S., Selvaraj, V., and Yellayi, S. Genestein, Estrogen Reseptors, and The acquired Immune Respone. *American Society for Nutrition* .2006(**136**):704-708
- [24].Kusmana, D., Lestari R., Dewi, N.A, Ratri, P.R dan Soraya, R.R.,. Efek Estrogenik Ekstrak Etanol 70% Kunyit (Curcuma domestica VAL.) terhadap Mencit (Mus Musculus L.) Betina yang diovarektomi. *Makara, Sains* 2007**11**(2):90-97
- [25]. Riggs, B.L & Hartman, L.D.2003. Selective estrogen receptor modulators to clinical practice mechanism of action and application. *N Angl J. Med.*348:618-629