

**LAPORAN HASIL
PENELITIAN DOSEN PEMULA**



**PENGARUH PENINGKATAN KADAR KORTIKOSTERON AKIBAT STRES
KRONIS TERHADAP PERUBAHAN BERAT BADAN *Rattus norvegicus***

TIM PENGUSUL

Ketua Peneliti : Risyia Secha Primindari, S.Keb., Bd., M.Kes
NIDN : 0727019301
Anggota Peneliti : Amirul Amalia, SSiT.,M.Kes
NIDN : 0723018301

**FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH LAMONGAN**

2022

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Pengaruh Peningkatan Kadar Kortikosteron akibat stres kronis terhadap Perubahan Berat Badan *Rattus Norvegicus*

Bidang Penelitian : Kebidanan

Ketua Penelitian

- a. Nama Lengkap : Risyasecha Primindari, S.Keb., Bd., M.Kes
- b. NIDN : 0727019301
- c. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
- d. Fakultas/Prodi : Fakultas Ilmu Kesehatan/Kebidanan
- e. Nomor Hp : 085730583574
- f. Alamat Email : risyasecha@gmail.com

Anggota Peneliti (1)

- a. Nama Lengkap : Amirul Amalia, SSiT.,M.Kes
- b. NIDN : 0723018301
- c. Fakultas/Prodi : Fakultas Ilmu Kesehatan/Kebidanan

Mahasiswa (1)

- a. Nama Lengkap : Amanda Gilbrania Putri Afandi
- b. NIM : 2202080012
- c. Fakultas/Prodi : Fakultas Ilmu Kesehatan/Kebidanan

Mahasiswa (2)

- a. Nama Lengkap : Pujangga Brilian Aurora Qolbi
- b. NIM : 2202080028
- c. Fakultas/Prodi : Fakultas Ilmu Kesehatan/Kebidanan

Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 1 tahun biaya

Tahun Berjalan : Rp.14.000.000

Biaya Keseluruhan : Rp.14.000.000

Lamongan, 10 Januari 2023
Ketua Peneliti

Mengetahui,
Dekan



Arifal Arif S.Kep., Ns., M.Kes
NIK. 19780821200601015

Risyasecha Primindari, S.Keb., Bd., M.Kes
NIDN. 0727019301

Menyetujui,
Ketua LPPM

Universitas Muhammadiyah Lamongan



Abdul Rokhman, S.Kep., Ns., M.Kep.
NIK. 198404052009046

IDENTITAS DAN URAIAN UMUM

Judul Penelitian : Pengaruh Peningkatan Kadar Kortikosteron akibat stres kronis terhadap Perubahan Berat Badan *Rattus Norvegicus*

1. Tim Peneliti :

No.	Nama	Jabatan	Bidang Keahlian	Instansi Asal	Alokasi Waktu (jam/minggu)
1.	Risya Secha Primindari, S.Keb., Bd., M.Kes	Ketua	Kebidanan	Universitas Muhammadiyah Lamongan	8 Jam/Minggu
3.	Amirul Amalia, SSiT., M.Kes	Anggota 1	Kebidanan		6 Jam/Minggu
4.	Amanda Gilbrania Putri Afandi	Mahasiswa 1	Kebidanan		6 Jam/Minggu
5.	Pujangga Brilian Aurora Qolbi	Mahasiswa 2	Kebidanan		6 Jam/Minggu

1. **Objek (khalayak sasaran) Penelitian :** *Tikus norvegicus*

2. **Masa Pelaksanaan :**

Mulai bulan : September tahun : 2022

Berakhir: bulan : Januari tahun : 2023

3. **Usulan Biaya UM Lamongan :** Rp.14.000.000

4. **Lokasi Penelitian :** Laboratorium Terpadu Universitas Muhammadiyah Lamongan

5. **Mitra yang terlibat (uraikan apa kontribusinya) Jika Ada :-**

6. **Permasalahan yang ditemukan dan solusi yang ditawarkan**

Kortikosteron adalah biomarker yang terkait dengan adaptasi kronis. Penurunan berat badan dikaitkan dengan peningkatan hormon glukokortikoid akibat stres yang mempengaruhi pembakaran lemak coklat sehingga kalori terbakar. Perubahan berat badan akibat peningkatan kadar hormon kortikosteron belum banyak diteliti

7. **Kontribusi mendasar pada khalayak sasaran (uraikan tidak lebih dari 50 kata, tekankan pada manfaat yang diperoleh)**

Peningkatan kadar kortikosteron serum akibat stres kronis terhadap perubahan berat badan *Rattus Novergicus* .

RINGKASAN

Kortikosteron adalah biomarker yang terkait dengan adaptasi kronis. Penurunan berat badan dikaitkan dengan peningkatan hormon glukokortikoid akibat stres yang mempengaruhi pembakaran lemak coklat sehingga kalori terbakar. Perubahan berat badan akibat peningkatan kadar hormon kortikosteron belum banyak diteliti. Menganalisis pengaruh peningkatan kadar kortikosteron serum akibat stres kronis terhadap perubahan berat badan *Rattus Novergicus*. Eksperimental Sejati dengan Desain Kelompok Kontrol Pasca Tes Saja . *Tikus norvegicus* dibagi menjadi kelompok kontrol (17 ekor tikus) yang tidak diberikan perlakuan stres dan kelompok perlakuan (17 ekor tikus) yang diberikan perlakuan stres dengan metode CUMS selama 20 hari. ELISA mendeteksi kadar kortikosteron serum , dan pengukuran perubahan berat badan dilakukan dua kali sebelum dan sesudah pemberian CUMS. Uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov dan uji Shapiro- Wilk , dilanjutkan dengan uji statistik parametrik Independent T-Test. Kortikosteron pada kelompok perlakuan lebih tinggi ($72,84 \pm 64,03$) dibandingkan kelompok kontrol ($23,29 \pm 8,42$). Perubahan berat badan kelompok kontrol ($14,62 \pm 4,98$) lebih berat dibandingkan kelompok perlakuan ($-10,33 \pm 11,24$). Uji statistik $p=0,000$ ($p < 0,05$). Peningkatan kadar kortikosteron serum akibat stres kronis terhadap perubahan berat badan *Rattus Novergicus* .

Kata Kunci: kortikosteron, stres kronis, berat badan, CUMS, *Rattus novergicus*

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	1
HALAMAN PENGESAHAN	2
RINGKASAN.....	3
PRAKATA	4
DAFTAR ISI	5
DAFTAR TABEL	6
DAFTAR GAMBAR.....	7
DAFTAR LAMPIRAN	8
BAB 1 PENDAHULUAN.....	9
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	12
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	21
BAB 4 METODE PENELITIAN	22
BAB 5 HASIL YANG DICAPAI	25
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	29
DAFTAR PUSTAKA.....	30
LAMPIRAN-LAMPIRAN	

BAB 1

PENDAHULUAN

Virus Corona 2019 (COVID-19) berdampak pada kesehatan mental global; Tinjauan meta-analisis pada populasi umum di Asia dan Eropa menunjukkan bahwa prevalensi stres adalah 29,6%, kecemasan 31,9%, dan depresi 33,7%. Studi lain yang dilakukan di Filipina menemukan bahwa 16,3% responden menilai dampak psikologis dari wabah ini sebagai sedang hingga parah, 16,9% melaporkan gejala depresi sedang hingga berat, 28,8% memiliki tingkat kecemasan sedang hingga berat, dan 13,4% mengalami gejala depresi sedang hingga berat. tingkat stres (Salari N, Hosseinian-Far A, Jalali R, Vaisi-Raygani A, Rasoulopoor S, Mohammadi M, dkk., 2020) Di Indonesia, status kesehatan mental selama pandemi COVID-19 diselidiki dan menemukan angka kejadian depresi sebesar 20,8%, kecemasan sebesar 34,6%, dan stres sebesar 25,4%. Angka kejadian kecemasan sedang hingga berat sebanyak 12,4%, kecemasan ringan sebanyak 26,3%, dan stres sebanyak 16%. Faktor yang mempengaruhi kesehatan mental pada masa pandemi Covid-19 adalah latar belakang karir dalam bidang kesehatan dan perilaku hidup sehat (mencuci tangan setelah batuk, bersin, dan menyentuh hidung) (Izzatika M, Syakurah RA, Bonita I, 2020)

Stres dan kecemasan selanjutnya mempengaruhi status kesehatan fisik dan psikologis dan mengakibatkan hasil kesehatan yang negatif. Stres dapat meningkatkan risiko penyakit kronis dan masalah kesehatan lainnya; menghadapi kondisi kronis dan kesehatan yang buruk dapat meningkatkan jumlah stres yang dialami seseorang. Survei APA tahun 2011 menunjukkan bahwa 39% melaporkan melewatkan waktu makan, dan 29% responden melaporkan makan berlebihan atau mengonsumsi makanan tidak sehat karena stres. Selain itu, 44% melaporkan terbangun di malam hari karena stres^{3,4}. Stres dibagi menjadi stres akut dan stres kronis. Stres akut berlangsung dalam waktu singkat namun cukup kuat, kemudian hilang dengan cepat. Stres kronis adalah stres yang tampak tidak terlalu kuat namun dapat berlangsung lama, sehari-hari hingga berbulan-bulan. Stres kronis yang dialami berulang kali dapat mempengaruhi kesehatan dan produktivitas individu⁵. Stres kronis berhubungan langsung dengan sistem endokrin stres dan mempengaruhi struktur otak, sistem kekebalan, dan perilaku seseorang. Individu yang terpapar stres kronis selama hidupnya memiliki risiko lebih tinggi terkena penyakit kardiovaskular, anoreksia, obesitas, kanker, gangguan kekebalan tubuh, dan gangguan

mental seperti depresi (Putri ABR, 2018)

Stresor dalam kehidupan sehari-hari tidak dapat diprediksi dalam berbagai bentuk; Jika individu tidak dapat mengatasi paparan stres, paparan yang terjadi secara terus menerus menyebabkan kondisi kronis. Penelitian ini menggunakan metode Chronic Unpredictable Mild Stress (CUMS). Stres Ringan Kronis yang Tidak Dapat Diprediksi memberikan berbagai perlakuan sebagai pemicu stres dan menyerupai stresor kehidupan sehari-hari yang tidak terlalu berat namun terus menerus (Senanayake GB, Arambepola C, 2019). Metode ini secara signifikan meningkatkan kadar kortikosteron (kortisol pada tikus) dalam waktu 20 hari (Maramis M.M, 2015). Pada tikus, sekresi kortisol digantikan oleh kortikosteron (López-López AL, Bonilla HJ, Escobar Villanueva M del C, Brianza MP, Vázquez GP, Alarcón FJA, 2016). Stres kronis meningkatkan sintesis dan sekresi glukokortikoid. Peningkatan glukokortikoid merupakan penanda stres dan gangguan depresi. Kortisol dan kortikosteron dalam serum tikus berbeda dan berkorelasi erat dengan dinamika kondisi fisiologis atau stres. Kortikosteron merupakan biomarker adaptasi kronis, sedangkan kortisol lebih cenderung mencerminkan stres akut yang parah (John E. Hall, 2018)

Stres membuat hormon kortikosteron menggeser keseimbangan metabolisme tubuh melalui proses katabolik. Tubuh mengatasi stres dengan meningkatkan ketersediaan gula dalam darah melalui glikolisis dan glukoneogenesis. Lipolisis diperlukan sebagai bahan baku glukoneogenesis. Lipolisis meningkatkan mobilisasi asam lemak dari jaringan adiposa. Peningkatan proses oksidasi asam lemak dalam sel akan menurunkan pengangkutan glukosa yang diperlukan untuk penyimpanan dan mempertahankan jumlah trigliserida dalam sel lemak. Jika bahan ini tidak ada, sel-sel lemak akan melepaskan asam lemak. Pemecahan cadangan asam lemak dalam tubuh menyebabkan penurunan berat badan (Gong S, Miao YL, Jiao GZ, Sun MJ, Li H, Lin J, dkk, 2015).

Kondisi stres menimbulkan dua kemungkinan perubahan berat badan; Hal ini disebabkan karena setiap individu mempunyai respon stres yang berbeda-beda. Penurunan berat badan dikaitkan dengan peningkatan hormon glukokortikoid yang mempengaruhi pembakaran lemak coklat, sehingga kalori dapat dibakar (Primindari RS, Sa A, Reny I (2020). Namun menurut Harding dkk., stres psikososial berhubungan positif dengan penambahan berat badan tetapi tidak dengan penurunan berat badan.

Belum ada penelitian mengenai pengaruh peningkatan kortikosteron akibat stres kronis terhadap perubahan berat badan. Penelitian yang ada hanya mencapai kondisi stres akut dan belum memberikan hasil yang konstan; untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih

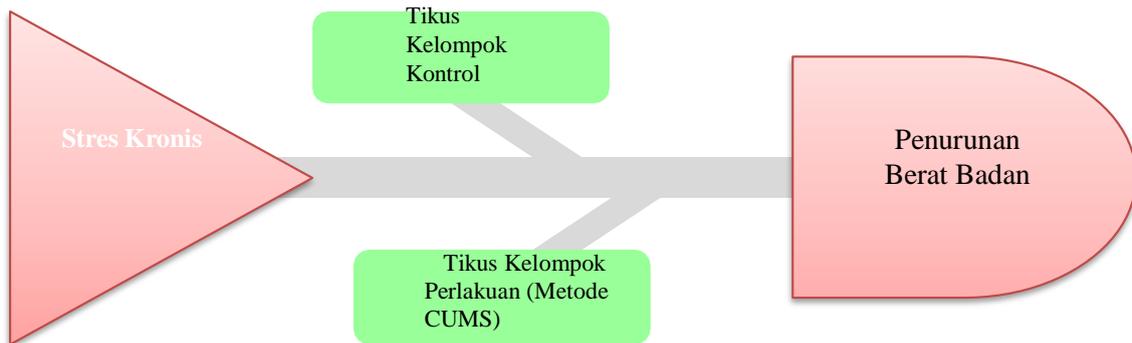
lanjut mengenai pengaruh perubahan hormon kortikosteron akibat stres kronis terhadap perubahan berat badan.

BAB 2

RENSTRA DAN PETA JALAN PENELITIAN

2.1 Peta Jalan Penelitian

Peta jalan penelitian Pengaruh Peningkatan Kadar Kortikosteron akibat stres kronis terhadap Perubahan Berat Badan *Rattus Norvegicus* digambarkan pada gambar 2.1. Pada penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental laboratorium secara *In Vitro* dengan Uji aktivitas antibakteri metode dilusi tabung dan difusi



Gambar 2.1 Pengaruh Peningkatan Kadar Kortikosteron akibat stres kronis terhadap Perubahan Berat Badan *Rattus Norvegicus*

2.2 Derajat Kepentingan Penelitian

Urgensi Penelitian

- 2.2.1 Penelitian ini diharapkan mampu menghasilkan alternatif pengobatan pencegahan dari bahan lokal
- 2.2.2 Mendorong percepatan capaian rencana strategis penelitian UM Lamongan menjadi pusat keunggulan dalam menghasilkan inovasi
- 2.2.3 Menynergikan penelitian dasar di UM Lamongan berbasis Renstra Penelitian dengan kebijakan dan mewujudkan program pembangunan lokal/nasional/internasional melalui pemanfaatan kepakaran UM Lamongan, sarana dan prasarana penelitian, dan atau sumber daya setempat.
- 2.2.4 Menjawab tantangan kebutuhan iptek-sosbud oleh pengguna sektor riil
- 2.2.5 Membangun jejaring kerja sama antar peneliti dalam bidang keilmuan dan minat yang sama, sehingga mampu menumbuhkan kapasitas penelitian institusi dan inovasi teknologi sejalan dengan kemajuan

BAB 3

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Stress Kronis

2.1.1 Pengertian Stres

Stres adalah gangguan pada tubuh dan pikiran yang disebabkan oleh perubahan dan tuntutan kehidupan (Vincent Cornelli, dalam Jenita DT Donsu, 2017). Menurut Charles D. Spielberger, menyebutkan stres adalah tuntutan-tuntutan eksternal yang mengenai seseorang misalnya objek dalam lingkungan atau sesuatu stimulus yang secara obyektif adalah berbahaya. Stres juga bias diartikan sebagai tekanan, ketegangan, gangguan yang tidak menyenangkan yang berasal dari luar diri seseorang (Jenita DT Donsu, 2017). Cofer & Appley (1964) menyatakan bahwa stres adalah kondisi organik seseorang pada saat ia menyadari bahwa keberadaan atau integritas diri dalam keadaan bahaya, dan ia harus meningkatkan seluruh energy untuk melindungi diri (Jenita DT Donsu, 2017). Cranwell-Ward (1987) menyebutkan stres sebagai reaksi-reaksi fisiologik dan psikologik yang terjadi jika orang mempersepsi suatu ketidakseimbangan antara tingkat tuntutan yang dibebankan kepadanya dan kemampuannya untuk memenuhi tuntutan itu (Jenita DT Donsu, 2017). Anggota IKAPI (2007) menyatakan stres adalah reaksi non-spesifik manusia terhadap rangsangan atau tekanan (stimulus stressor). Stres merupakan suatu reaksi adaptif, bersifat sanga individual, sehingga suatu stres bagi seseorang belum tentu sama tanggapannya bagi orang lain (Jenita DT Donsu, 2017).

Stres adalah segala sesuatu di mana tuntutan non-spesifik mengharuskan seorang individu untuk merespons atau melakukan tindakan (Potter dan Perry, dalam Jenita DT Donsu, 2017). Menurut Hawari (2008) bahwa Hans Selve menyatakan stres adalah respon tubuh yang sifatnya non-spesifik terhadap setiap tuntutan beban atasnya (Jenita DT Donsu, 2017). Stres didefinisikan sebagai ketidakmampuan mengatasi ancaman yang dihadapi oleh mental, fisik, emosional, dan spiritual manusia, yang pada suatu saat dapat mempengaruhi keadaan fisik manusia tersebut. Stres dapat dipandang dalam dua acara, sebagai stres baik dan stres buruk (distres). Stres yang baik disebut 9 stres positif sedangkan stres yang buruk disebut stres negatif. Stres buruk dibagi menjadi dua yaitu stres akut dan stres kronis (Widyastuti, Palupi, 2004).

Menurut WHO (2003) stres adalah reaksi/respon tubuh terhadap stressor psikososial (tekanan mental/beban kehhidupan (Priyoto, 2014).

2.1.2 Jenis-jenis Stres

Menurut Jenita DT Donsu (2017) secara umum stres dibagi menjadi dua yaitu :

- a. Stres akut Stres yang dikenal juga dengan flight or flight response.

Stres akut adalah respon tubuh terhadap ancaman tertentu, tantangan atau ketakutan. Respons stres akut yang segera dan intensif di beberapa keadaan dapat menimbulkan gemetaran.

- b. Stres kronis

Stres kronis adalah stres yang lebih sulit dipisahkan atau diatasi, dan efeknya lebih panjang dan lebih.

Menurut Priyoto (2014) menurut gejalanya stres dibagi menjadi tiga yaitu:

- a. Stres Ringan

Stres ringan adalah stressor yang dihadapi setiap orang secara teratur, seperti banyak tidur, kemacetan lalu lintas, kritikan dari atasan. Situasi stres ringan berlangsung beberapa menit atau jam saja.

Ciri-ciri stres ringan yaitu semangat meningkat, penglihatan tajam, energi meningkat namun cadangan energinya menurun, kemampuan menyelesaikan pelajaran meningkat, sering merasa letih tanpa sebab, kadangkadang terdapat gangguan sistem seperti pencernaan, otak, perasaan tidak santai. Stres ringan berguna karena dapat memacu seseorang untuk berpikir dan berusaha lebih tangguh menghadapi tantangan hidup.

- b. Stres Sedang Stres sedang berlangsung lebih lama daripada stress ringan.

Penyebab stres sedang yaitu situasi yang tidak terselesaikan dengan rekan, anak yang sakit, atau ketidakhadiran yang lama dari anggota keluarga. Ciri-ciri stres sedang yaitu sakit perut, mules, otot-otot terasa tegang, perasaan tegang, gangguan tidur, badan terasa ringan.

- c. Stres Berat Stres berat adalah situasi yang lama dirasakan oleh seseorang dapat berlangsung beberapa minggu sampai beberapa bulan, seperti perselisihan

perkawinan secara terus menerus, kesulitan finansial yang berlangsung lama karena tidak ada perbaikan, berpisah dengan keluarga, berpindah tempat tinggal mempunyai penyakit kronis dan termasuk perubahan fisik, psikologis sosial pada usia lanjut. Ciri-ciri stres berat yaitu sulit beraktivitas, gangguan hubungan sosial, sulit tidur, negatifistic, penurunan konsentrasi, takut tidak jelas, kelelahan meningkat, tidak mampu melakukan pekerjaan sederhana, gangguan sistem

meningkatkan perasaan takut meningkat.

2.1.3 Dampak Stres

Stres pada dosis yang kecil dapat berdampak positif bagi individu. Hal ini dapat memotivasi dan memberikan semangat untuk menghadapi tantangan. Sedangkan stres pada level yang tinggi dapat menyebabkan depresi, penyakit kardiovaskuler, penurunan respon imun, dan kanker (Jenita DT Donsu, 2017).

Menurut Priyono (2014) dampak stres dibedakan dalam tiga kategori, yaitu :

- a. Dampak fisiologik 1) Gangguan pada organ tubuh hiperaktif dalam salah satu system tertentu a) Muscle myopathy : otot tertentu mengencang/melemah. b) Tekanan darah naik : kerusakan jantung dan arteri. c) Sistem pencernaan : mag, diare. 2) Gangguan system reproduksi a) Amenorrhea : tertahannya menstruasi. b) Kegagalan ovulasi ada wanita, impoten pada pria, kurang produksi semen pada pria. c) Kehilangan gairah sex. 3) Gangguan lainnya, seperti pening (migrane), tegang otot, rasa bosan, dll.
- b. Dampak psikologik 1) Keletihan emosi, jenuh, penghayatan ini merupakan tanda pertama dan punya peran sentral bagi terjadinya burn-out. 2) Kewalahan/keletihan emosi. 11 3) Pencapaian pribadi menurun, sehingga berakibat menurunnya rasa kompeten dan rasa sukses.
- c. Dampak perilaku 1) Manakala stres menjadi distress, prestasi belajar menurun dan sering terjadi tingkah laku yang tidak diterima oleh masyarakat. 2) Level stres yang cukup tinggi berdampak negatif pada kemampuan mengingat informasi, mengambil keputusan, mengambil langkah tepat. 3) Stres yang berat seringkali banyak membolos atau tidak aktif mengikuti kegiatan pembelajaran.

2.1.4 Faktor-faktor yang Menyebabkan Stres

Wahjono, Senot Imam (2010) menyatakan bahwa terdapat beberapa faktor yang menyebabkan stres antara lain :

- a. Faktor Lingkungan Ketidakpastian lingkungan mempengaruhi perancangan struktur organisasi, ketidakpastian juga mempengaruhi tingkat stres di kalangan para karyawan dalam sebuah organisasi. Bentuk_bentuk ketidakpastian lingkungan ini antara lain ketidakpastian ekonomi berpengaruh terhadap seberapa besar pendapatan yang diterima oleh karyawan maupun reward yang diterima karyawan, ketidakpastian politik berpengaruh terhadap keadaan dan kelancaran organisasi yang dijalankan, ketidakpastian teknologi berpengaruh terhadap kemajuan suatu

organisasi dalam penggunaan teknologinya, dan ketidakpastian keamanan berpengaruh terhadap posisi dan peran organisasinya.

- b. Faktor Organisasi Beberapa faktor organisasi yang menjadi potensi sumber stres antara lain: 1) Tuntutan tugas dalam hal desain pekerjaan individu, kondisi kerja, dan tata letak kerja fisik. 2) Tuntutan peran yang berhubungan dengan tekanan yang diberikan pada seseorang sebagai fungsi dari peran tertentu yang dimainkan dalam sebuah organisasi termasuk beban kerja yang diterima seorang individu. 3) Tuntutan antar-pribadi, yang merupakan tekanan yang diciptakan oleh karyawan lain seperti kurangnya dukungan sosial dan buruknya hubungan antar pribadi para karyawan. 4) Struktur organisasi yang menentukan tingkat diferensiasi dalam organisasi, tingkat aturan dan peraturan, dan di mana keputusan di ambil. Aturan yang berlebihan dan kurangnya partisipasi individu dalam pengambilan keputusan merupakan potensi sumber stres. 5) Kepemimpinan organisasi yang terkait dengan gaya kepemimpinan atau manajerial dan eksekutif senior organisasi. Gaya kepemimpinan tertentu dapat menciptakan budaya yang menjadi potensi sumber stres.
- c. Faktor Individu Faktor individu menyangkut dengan faktor-faktor dalam kehidupan pribadi individu. Faktor tersebut antara lain persoalan keluarga, masalah ekonomi pribadi, dan karakteristik kepribadian bawaan. Menurut Robbins (2006) Setiap individu memiliki tingkat stres yang berbeda meskipun diasumsikan berada dalam faktor-faktor pendorong stres yang sama. Perbedaan individu dapat menentukan tingkat stress yang ada. Secara teoritis faktor perbedaan individu ini dapat dimasukkan sebagai variable intervening. Ada lima yang dapat menjadi variabel atau indikator yang dapat digunakan dalam mengukur kemampuan individu dalam menghadapi stres yaitu pengalaman kerja merupakan pengalaman seorang individu dalam suatu pekerjaan dan pendidikan yang ditekuninya, dukungan sosial merupakan dukungan atau dorongan dari dalam diri sendiri maupun orang lain untuk menghadapi masalah-masalah yang dialaminya termasuk bagaimana motivasi dari dalam diri individu maupun dari luar individu, ruang (locus) kendali merupakan cara bagi seorang individu mengendalikan diri untuk menghadapi masalah yang ada, keefektifan dan tingkat kepribadian orang dalam menyingkapi permusuhan dan kemarahan. Tingkat stres juga terkait dengan penerapannya pengelolaan stres di dalam sebuah organisasi. Pendekatan pengelolaan stres ini dapat dijadikan variabel penelitian, untuk melihat pengaruh penerapan pendekatan ini terhadap tingkat stres

pada organisasi. Dua pendekatan dan indikatornya sebagai berikut (Robbins, 2006)

- 1) Pendekatan Individu Penerapan pendekatan ini dalam sebuah perusahaan dapat dilihat dari beberapa indikator yaitu dari pelaksanaan teknik-teknik manajemen waktu yang efektif dan efisien, adanya latihan fisik nan kompetitif seperti jogging, aerobik, berenang, adanya kegiatan pelatihan pengenduran (relaksasi) seperti meditasi, hipnotis dan biofeedback, dan adanya perluasan jaringan dukungan sosial.
- 2) Pendekatan Organisasi Penerapan pendekatan ini dalam sebuah perusahaan dapat dilihat dari beberapa indikator yaitu adanya perbaikan mekanisme seleksi personil dan penempatan kerja, penggunaan penetapan sasaran yang realistis, adanya perancangan ulang pekerjaan yang dapat memberikan karyawan kendali yang besar dalam pekerjaan yang mereka tekuni, adanya peningkatan keterlibatan karyawan dalam pengambilan keputusan, adanya perbaikan komunikasi organisasi yang dapat mengurangi ambiguitas peran dan konflik peran, dan penegakan program kesejahteraan korporasi yang memusatkan perhatian pada keseluruhan kondisi fisik dan mental karyawan.

2.2 Stress dan Kortikosteron

Stres membuat hormon kortikosteron menggeser keseimbangan metabolisme tubuh melalui proses katabolik. Tubuh mengatasi stres dengan meningkatkan ketersediaan gula dalam darah melalui glikolisis dan glukoneogenesis. Lipolisis diperlukan sebagai bahan baku glukoneogenesis. Lipolisis meningkatkan mobilisasi asam lemak dari jaringan adiposa. Peningkatan proses oksidasi asam lemak dalam sel akan menurunkan pengangkutan glukosa yang diperlukan untuk penyimpanan dan mempertahankan jumlah trigliserida dalam sel lemak. Jika bahan ini tidak ada, sel-sel lemak akan melepaskan asam lemak. Pemecahan cadangan asam lemak dalam tubuh menyebabkan penurunan berat badan

Kondisi stres menimbulkan dua kemungkinan perubahan berat badan; Hal ini disebabkan karena setiap individu mempunyai respon stres yang berbeda-beda. Penurunan berat badan dikaitkan dengan peningkatan hormon glukokortikoid yang mempengaruhi pembakaran lemak coklat, sehingga kalori dapat dibakar, Namun menurut Harding dkk. stres psikososial berhubungan positif dengan penambahan berat badan tetapi tidak dengan penurunan berat badan.

BAB 4

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian eksperimen adalah True Experimental dengan desain Post Test Only Control Group Design. Jumlah unit sampel berdasarkan rumus Lemeshow adalah 30 ekor tikus wistar betina (*Rattus norvegicus*). Variabel bebasnya adalah kadar kortikosteron akibat stres kronis, dan variabel terikatnya adalah perubahan berat badan. Terdapat dua kelompok dalam penelitian ini yaitu kelompok perlakuan negatif atau kelompok kontrol negatif yaitu tikus yang tidak diberikan stressor (K), dan kelompok perlakuan yaitu tikus yang diberikan stressor CUMS (P). Tikus ditempatkan dalam kandang dan dikolonisasi 2 sampai 3 ekor tikus pada ruangan yang tenang, sunyi, dan berventilasi. Tikus makan dan minum diberikan secara ad libitum. Tikus kelompok K diberi pencahayaan yang beradaptasi dengan cahaya luar pada pagi dan sore hari tanpa cahaya dan terlindung dari situasi stres. Tikus kelompok P diberikan stressor metode CUMS sesuai Tabel 1.

Tabel 1. Protokol stres ringan kronis yang tidak dapat diprediksi (CUMS) diterapkan selama 20 hari

Hari	Stresor (waktu)	Hari	Stresor (waktu)
Satu	Benda asing (3 jam)	11	Pengekangan (1 jam)
2	Kepadatan berlebih (24 jam)	12	Tanpa pemicu stres
3	Perendaman dalam air dingin (3m)	13	pengekangan (1 jam)
4	Isolasi (24 jam)	14	Imobilisasi (2 jam)
5	Imobilisasi (2 jam)	15	Kepadatan berlebih (24 jam)
6	Cahaya terus-menerus (24 jam)	16	Benda asing (3 jam)
7	Tanpa pemicu stres	17	Kepadatan berlebih ditambah cahaya terus-menerus (24 jam)
8	Kepadatan berlebih ditambah cahaya terus-menerus (24 jam)	18	Stresor nyeri (1 jam)
9	Stresor nyeri (1 jam)	19	Cahaya terus-menerus (24 jam)
10	Isolasi (24 jam)	20	Perendaman dalam air dingin (3m)

Pemeriksaan kadar kortikosteron serum menggunakan darah yang diambil secara intrakardial kemudian diperiksa dengan metode ELISA. Berat badan diukur menggunakan timbangan digital dengan ketelitian 10^{-2} gram. Dengan menggunakan skala yang sama, pengukuran berat badan seluruh kelompok penelitian dilakukan dua kali selama penelitian. Pengukuran dilakukan pada hari pertama penelitian, dan pengukuran kedua dilakukan sebelum penghentian.

Pemrosesan data kadar kortikosteron serum dan perubahan berat badan yang dikumpulkan akan diberi kode, diedit, dimasukkan, dan dibersihkan. Kemudian dikelompokkan berdasarkan variabel penelitian dan disajikan dalam bentuk tabel, distribusi frekuensi, tabel silang, dan grafik. Data yang diperoleh diuji normalitasnya dengan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov dan Shapiro-Wilk, dilanjutkan dengan uji statistik parametrik Independent T-Test.

BAB 5

HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode *Chronic Unpredictable Mild Stress* (CUMS) untuk memicu stres kronis pada hewan coba yang berdampak pada peningkatan kadar kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus* selaku subyek penelitian serta menurunnya ekspresi HBEGF pada endometrium. Data yang dihasilkan berupa variabel bebas yaitu kadar kortisol serum dan variabel terikat ekspresi HBEGF pada endometrium.

5.1 Karakteristik Subyek Penelitian

5.1.1 Karakteristik *Rattus norvegicus* secara umum

Subyek penelitian dalam penelitian ini adalah 34 ekor *Rattus norvegicus* yang terbagi menjadi dua kelompok, yakni kelompok kontrol (17 ekor) dan perlakuan (17 ekor). Pada kelompok kontrol didapatkan 2 unit sampel yang pada pemeriksaan ELISA tidak terdeteksi kadar kortikosteron sehingga dilakukan eksklusi. Pada kelompok perlakuan, terdapat satu ekor *Rattus norvegicus* drop out karena mati sebelum perlakuan selesai diberikan. Sehingga, jumlah akhir unit sampel masing – masing kelompok kontrol adalah 15 ekor dan kelompok perlakuan 16 ekor. Jumlah tersebut sesuai dengan jumlah sampel minimal dalam penelitian ini (15 ekor).

5.1.2 Berat badan *Rattus norvegicus*

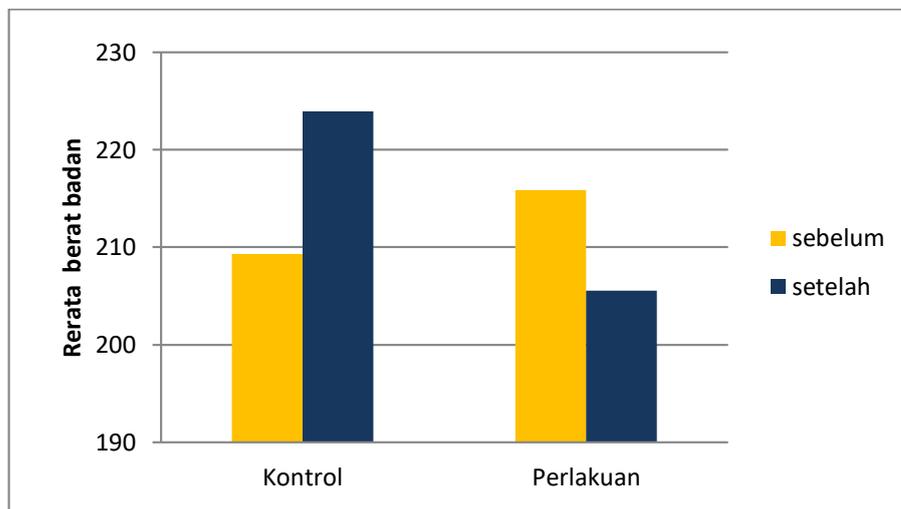
Berat badan diukur menggunakan timbangan digital yang memiliki akurasi hingga 10^{-2} gram. Pengukuran berat badan semua kelompok penelitian dilakukan 2 kali selama penelitian dilakukan. Pengukuran dilakukan pada hari pertama penelitian, dan pengukuran kedua dilakukan menjelang terminasi. Data berat badan unit sampel sebelum dan setelah penelitian di tunjukkan dalam tabel 5.1 berikut :

Tabel 5.1 Karakteristik sampel *Rattus norvegicus* berdasarkan rerata berat badan sebelum dan setelah pemberian stresor

Kelompok	n	Sebelum perlakuan (g)	Setelah perlakuan (g)
		Mean \pm SD	Mean \pm SD
Kontrol	15	209.31 \pm 15.47	223.93 \pm 18.58
Perlakuan	16	215.88 \pm 15.99	205.54 \pm 14.21

Tabel 5.1 menunjukkan rerata berat badan *Rattus norvegicus* sebelum dan setelah pemberian stresor selama 20 hari. Sebelum perlakuan dimulai diketahui rerata berat badan hewan coba pada kelompok perlakuan (215.88 ± 15.99) lebih berat daripada kelompok kontrol (209.31 ± 15.47). Setelah pemberian stresor diberikan selama 20 hari didapatkan rerata berat badan hewan coba pada kelompok kontrol (223.93 ± 18.58) lebih berat daripada kelompok perlakuan (205.54 ± 14.21).

Perubahan berat badan sebelum dan setelah pemberian stresor diberikan selama 20 hari dapat dilihat pada gambar 5.1. Pada kelompok kontrol terlihat semua *Rattus norvegicus* mengalami peningkatan berat badan dengan nilai yang bervariasi. Pada kelompok perlakuan terlihat lebih banyak *Rattus norvegicus* yang mengalami penurunan berat badan.



Gambar 5.1 Rerata berat badan *Rattus norvegicus* pada kelompok kontrol dan perlakuan sebelum dan setelah pemberian stresor 20 hari

Berdasarkan tabel 5.2 diketahui bahwa hasil rerata perubahan berat badan *Rattus norvegicus* sebelum dan setelah 20 hari pemberian stresor pada kelompok kontrol (14.62 ± 4.98) lebih tinggi di bandingkan kelompok perlakuan (-10.33 ± 11.24). Kelompok kontrol mengalami peningkatan berat badan paling banyak sebesar 23.45 gram dan kelompok perlakuan hanya mengalami peningkatan berat badan paling besar 7.50 gram. Kelompok perlakuan di ketahui terjadi penurunan berat badan hingga 25.33 gram.

Tabel 5.2 Rerata perubahan berat badan *Rattus norvegicus* badan sebelum dan setelah pemberian stresor

	Kelompok	n	Mean \pm SD (ng/mL)	Minimal (ng/mL)	Maksimal (ng/mL)
K	Kontrol	15	14.62 \pm 4.98	6.98	23.45
P	Perlakuan	16	-10.33 \pm 11.24	-25.33	7.50

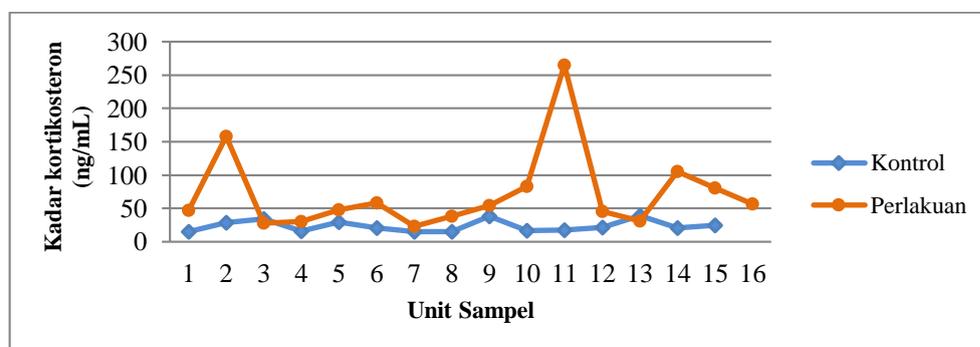
Uji normalitas dilakukan terlebih dahulu menggunakan *Shapiro Wilk* dengan hasil semua data berdistribusi normal ($p > 0.05$). Pada perubahan berat badan *Rattus norvegicus* dilakukan uji statistik *Independent t-test* menunjukkan $p = 0.000$ ($p < 0.05$) yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan. Berdasarkan tabel 5.3 dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan mengalami penurunan berat badan setelah mendapatkan pemberian stresor 20 hari.

Tabel 5.3 Hasil uji normalitas dan uji beda perubahan berat badan *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor

	Kelompok	n	<i>Shapiro-Wilk</i>	<i>Uji Independent T-test</i>
			Nilai p	Nilai p
K	Kontrol	15	0.538	0.000
P	Perlakuan	16	0.393	

5.2 Kadar Kortikosteron

Pengukuran kadar hormon kortikosteron dengan metode *Enzyme Linked Immunoassay* (ELISA). Kadar hormon kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor dapat dilihat dalam gambar 5.2 dan tabel 5.4 berikut :



Gambar 5.2 Kadar hormon kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor

Berdasarkan gambar 5.2 dapat diketahui bahwa pada kelompok perlakuan memiliki kadar kortikosteron serum lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol.

Tabel 5.4 Rerata dan standar deviasi kadar hormon kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor

Kelompok	n	Mean \pm SD (ng/mL)	Minimal (ng/mL)	Maksimal (ng/mL)
Kontrol	15	23.29 \pm 8.42	15.004	38.604
Perlakuan	16	72.84 \pm 64.03	22.700	264.949

Berdasarkan tabel 5.4 diketahui bahwa hasil rerata kadar hormon kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor pada kelompok perlakuan (72.84 \pm 64.03) lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol (23.29 \pm 8.42).

Tabel 5.5 Hasil uji normalitas dan uji beda kadar hormon kortikosteron serum *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor

Kelompok	n	Shapiro-Wilk	Uji Mann Whitney
		Nilai p	Nilai p
Kontrol	15	0.024	0.000*
Perlakuan	16	0.000	

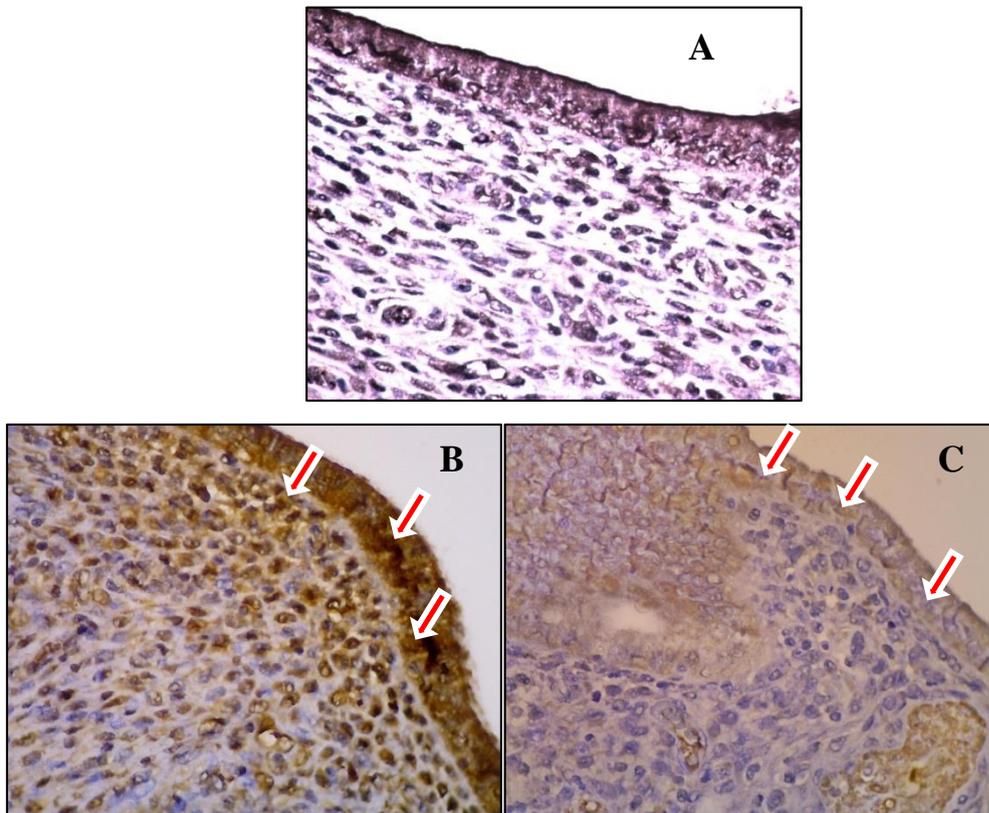
* Berbeda bermakna $p < 0.05$

Berdasarkan tabel 5.5 diketahui bahwa hasil uji normalitas kadar hormon kortikosteron serum *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor, berdistribusi tidak normal baik pada kelompok kontrol ($p=0.024$, $p>0.05$) maupun kelompok perlakuan ($p=0.000$, $p>0.05$). Analisis statistik untuk mencari perbedaan dilanjutkan dengan uji nonparametrik *Mann Whitney*. Hasil dari uji *Mann Whitney* menunjukkan perbedaan bermakna antara kadar hormon kortikosteron serum *Rattus norvegicus* pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$).

5.3 Ekspresi HBEGF

Pemeriksaan ekspresi HBEGF dengan metode imunohistokimia dilakukan melalui dua tahap. Setelah dibaca dan dipotret dengan mikroskop *MCX50LED* perbesaran 400x yang terhubung dengan komputer dan software (Optilab Viewer[®]2.2), jumlah sel yang

mengekspresikan HBEGF dihitung. Selanjutnya secara manual dan divalidasi dengan software (Image Raster[®]3.0) akan menentukan secara otomatis intensitas warna yang terpendar dari sel positif tersebut. Langkah kedua yakni mengalikan jumlah sel positif dengan intensitas warna yang ada berdasarkan *Indeks Remmele Scale (IRS)*. Pengamatan ekspresi HBEGF tampak pada gambar 5.3.



Gambar 5.3 Jaringan endometrium *Rattus norvegicus* potongan melintang setelah 20 hari pemberian stresor yang mengekspresikan HBEGF dideteksi dengan antibodi monoklonal HBEGF metode imunohistokimia, diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Sel yang mengekspresikan HBEGF ditandai dengan kemunculan warna kecokelatan yang ditunjukkan dengan panah merah. (A) Jaringan endometrium kelompok kontrol (K6) pada pemeriksaan histologi (B) Ekspresi HBEGF pada kelompok kontrol (K13). (C) Ekspresi HBEGF pada kelompok perlakuan (P14).

Tabel 5.6 Rerata dan standar deviasi ekspresi HBEGF pada endometrium *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor

Kelompok	n	Mean ± SD	Minimal	Maksimal
Kontrol	15	118.76 ± 13.20	94.20	148.30
Perlakuan	16	82.06 ± 5.91	69.50	91.10

Berdasarkan tabel 5.6 diketahui bahwa hasil rerata ekspresi HBEGF endometrium *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor pada kelompok kontrol (118.76±13.20) lebih tinggi di bandingkan kelompok perlakuan (82.06 ±5.91).

Tabel 5.7 Hasil uji normalitas dan uji beda kadar ekspresi HBEGF pada endometrium *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor

Kelompok	n	Shapiro-Wilk	Uji Independent T-test
		Nilai p	Nilai p
Kontrol	15	0.888	0.000
Perlakuan	16	0.870	

Berdasarkan tabel 5.7 diketahui bahwa hasil uji normalitas ekspresi HBEGF pada endometrium *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor berdistribusi normal baik pada kelompok kontrol (p=0.159, p>0.05) maupun pada kelompok perlakuan (p=0.077, p>0.05). Analisis statistik untuk mencari perbedaan dilanjutkan dengan uji statistik *Independent t-test* menunjukkan p=0.000 (p<0.05) yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan.

PEMBAHASAN

Penelitian studi eksperimental laboratorium ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh kadar kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus* akibat stres kronis terhadap ekspresi HBEGF pada endometrium. Metode *Chronic Unpredictable Stress* (CUMS) dilakukan untuk mendapatkan kondisi stres kronis pada sampel.

Selama penelitian didapati satu ekor *Rattus norvegicus* mati di kelompok perlakuan. Kematian *Rattus norvegicus* terjadi pada hari ke 16 diberikannya perlakuan.

Setelah dilakukan pemeriksaan kadar kortikosteron serum menggunakan metode ELISA di dapatkan 2 sampel pada kelompok kontrol tidak terdeteksi sehingga dilakukan eksklusi.

6.2 Perubahan Berat Badan

Perubahan berat badan dan kenaikan hormon kortikosteron digunakan sebagai parameter unit sampel penelitian telah mengalami stres kronis. Rerata perubahan berat badan selama perlakuan pada kelompok perlakuan yang mendapatkan paparan CUMS selama 20 hari berbeda signifikan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok perlakuan tampak kecenderungan mengalami penurunan berat badan selama penelitian. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Puriastuti (2018), dimana hasil penelitian pada kelompok CUMS mengalami penurunan berat badan dibanding kelompok kontrol.

Perubahan berat badan merupakan salah satu bentuk perubahan sistem tubuh yang semula normal, saat ini menjadi terganggu. Stres dapat berkontribusi dalam perubahan perilaku makan yang menyebabkan perubahan berat badan. Kondisi ini menyebabkan adanya dua kemungkinan dalam perubahan berat badan saat stres. Masing-masing individu mempunyai respon yang berbeda terhadap stres. Penurunan berat badan dihubungkan dengan peningkatan hormon glukokortikoid yang mempengaruhi pembakaran pada lemak coklat, sehingga kalori dapat terbakar (Symonds, 2016). Saat stres hormon kortikosteron akan menggeser keseimbangan metabolisme tubuh melalui proses katabolik. Tubuh menghadapi stres dengan cara meningkatkan ketersediaan gula dalam darah melalui glikolisis dan glukoneogenesis. Pemecahan lemak (lipolisis) dibutuhkan sebagai bahan baku untuk glukoneogenesis. Lipolisis meningkatkan mobilisasi asam lemak dari jaringan lemak. Adanya peningkatan proses oksidasi asam lemak dalam sel akan mengurangi pengangkutan glukosa yang dibutuhkan untuk penyimpanan dan mempertahankan jumlah trigliserida di dalam sel-sel lemak. Jika bahan ini tidak ada, maka sel-sel lemak akan mulai melepaskan asam lemaknya. Adanya pemecahan cadangan asam lemak di dalam tubuh menyebabkan berat badan berkurang (Kyrou, 2009). Tetapi menurut Harding *et al.*(2014) stres psikososial berhubungan positif dengan kenaikan berat badan tetapi bukan penurunan berat badan. Efek stres psikologis secara kronis lebih bervariasi, Harris (2015) berasumsi diperlukan studi lebih lanjut mengenai perbedaan fenotip antara manusia dan hewan coba dalam merespon stres kronik dan akut.

6.3 Peningkatan Kadar Kortikosteron

Kadar kortikosteron antara kedua kelompok terdapat perbedaan bermakna dengan nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$) dimana kadar kortikosteron kelompok perlakuan lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan Zhao (2013) dimana ditemukan adanya peningkatan signifikan pada kadar kortikosteron tikus setelah 8 jam inisiasi restrain stres. Wang (2019) dalam penelitiannya pada model tikus stres akut menemukan peningkatan secara signifikan konsentrasi kortikosteron serum. Ditemukan juga adanya penurunan secara signifikan FSH, LH, progesteron dalam serum. Shafiei (2017) dalam penelitiannya menemukan adanya penurunan FSH dan LH dan peningkatan kortikosteron, pada tikus betina dewasa yang terpapar dengan stres kebisingan, pada kelompok eksperimen dibandingkan dengan kelompok kontrol. Stres kebisingan dapat mengurangi gonadotropin dan hormon seks pada waktu implantasi.

Stres kronis meningkatkan sintesis dan sekresi glukokortikoid (kortisol pada manusia dan kortikosteron pada hewan pengerat). Peningkatan glukokortikoid adalah biomarker untuk stres dan gangguan depresi (Joseph, 2017). Kortikosteron merupakan hormon glukokortikoid yang dominan pada hewan pengerat, sama halnya seperti kortisol pada manusia (Guillemin *et.al*, dalam Guyton, 2016).

Dalam kondisi normal, glukokortikoid akan memberikan *negative feedback* dengan menekan sekresi CRH untuk mencegah respon stres yang berlebihan, namun hal ini tidak terjadi pada stres kronis dimana terjadi aktivitas HPA aksis secara terus menerus (Lopez-Lopez *et al*, 2016). Peningkatan glukokortikoid ini juga memengaruhi HPO aksis secara langsung dengan melepas pelepasan GnRH dari hipotalamus dan menekan pelepasan hormon gonadotropin dari hipofisis yang dapat mengganggu berbagai mekanisme yang terjadi di ovarium sehingga dapat mengarah ke gangguan reproduksi (Whirledge dan Cidlowski, 2017).

Terdapat banyak teori yang menyajikan mekanisme stres kronis terhadap perubahan fungsi reproduksi. Selain karena aktivitas CRH dan glukokortikoid, yang akan dibahas berikutnya bersama pengaruh terhadap hormon gonadotropin, siklus sirkadian yang terganggu turut menjadi mekanisme yang digunakan dalam penelitian ini. Unit

sampel dalam penelitian ini adalah *Rattus norvegicus* yang merupakan hewan nokturnal (Kusumawati, 2014), sedangkan seluruh kegiatan perlakuan dilakukan pada pagi – siang hari sehingga merubah siklus sirkadian *Rattus norvegicus*. Pada penelitian ini, hewan coba dibiarkan terjaga selama perlakuan. Perlakuan dimulai pukul 09.00 pagi dan lama dari perlakuan bervariasi. Gangguan pola tidur yang diberlakukan pada hewan coba menyebabkan gangguan irama sirkadian pada pusat pengaturan irama sirkadian yang ada di hipotalamus yaitu *Supra Chiasmatic Nucleus* (SCN). Irama sirkadian adalah jam biologis tubuh selama 24 jam dalam sehari. Sistem ini mengatur sekresi hormon, dan proses fisiologis salah satunya siklus tidur terjaga (Zee, 2013). Hawari (2016) menyatakan bahwa gangguan pola tidur yang tidak di upayakan penanggulangannya akan jatuh pada kondisi stres psikososial. Selain stres fisik yang diberikan, perubahan irama sirkadian juga memberikan dampak stres psikologis pada hewan coba sehingga memperparah stres yang ada. Menurut Gamble *et al* (2013), siklus sirkadian merupakan bagian pengaturan integral dari sistem reproduksi, ketika program 24 jam ini tidak teratur maka sistem endokrin dapat terganggu. Tingginya kadar kortikosteron pada *Rattus norvegicus* dalam penelitian ini sejalan dengan penelitian Lopez-Lopes *et al.*, (2016) yang menyatakan bahwa CUMS dapat meningkatkan kadar kortikosteron dengan minimal pemberian perlakuan selama 20 hari.

Pemberian treatment kortikosteron pada tikus menyebabkan hilangnya ekspresi KISS 1 di hipotalamus selama lonjakan LH yang menginduksi estradiol dan penurunan fungsi neuron KISS 1. Glukokortikoid, yakni kortisol dan deksametason, juga telah terbukti menurunkan kadar LH induksi *steroidogenic acute regulatory protein* (StAR) dan kadar progesteron pada sel granulosa tikus dan manusia. Perbedaan ini mencerminkan perbedaan dosis dalam tiap tahap perkembangan folikel. Peningkatan kadar glukokortikoid karena stres restrain merusak potensi perkembangan oosit pada evaluasi penelitian *ex vivo* (Whirledge dan Cidlowski, 2017). Glukokortikoid melalui pembuluh darah perifer masuk ke jaringan ovarium dan berikatan dengan CBP yang ada di dalam folikel. Selanjutnya merangsang berbagai mekanisme termasuk efek langsung steroidogenesis yang mempengaruhi kualitas oosit (Setiyono, 2015; da Costa *et al.*, 2017). Glukokortikoid secara diferensial menginduksi dan menekan steroidogenesis di ovarium. Penurunan kadar progesteron akibat tingginya kadar glukokortikoid pada akhirnya akan berdampak negatif pada perkembangan endometrium.

Stres berdampak pada poros reproduksi pada tingkat hipotalamus dan kelenjar

hipofisis diatur oleh poros hipotalamus-hipofisis-ovarium (HPO). Pada penelitian yang dilakukan Wang (2019) tentang dampak stimulasi kortikosteron akibat stres akut pada pelepasan progesteron dan kerusakan endometrium menemukan bahwa stres akut mengakibatkan disintegrasi pada endometrium. Konsentrasi kortikosteron dalam serum meningkat secara signifikan karena stres akut dan FSH, LH serta kadar progesteron dalam serum menurun secara signifikan. Pemeriksaan histologi endometrium menunjukkan bahwa implan progesteron dapat menyelamatkan penurunan progesteron yang disebabkan oleh stres akut dan memblokir kerusakan endometrium. PCR *real-time* dan *western blot* menunjukkan bahwa mRNA dan ekspresi protein CYP11A1 (sitokrom P450, keluarga 11, subfamili A, polipeptida 1) dan protein regulator akut steroidogenik (StAR) yang merupakan dua enzim pembatas laju untuk sintesis progesteron dalam ovarium menurun setelah stres akut. Secara keseluruhan penelitian ini mengungkapkan bahwa stres akut menghasilkan peningkatan kortikosteron, yang dapat menghambat pelepasan LH dan FSH dalam serum dan ekspresi CYP11A1 dan StAR di ovarium, yang akhirnya mengarah pada kerusakan endometrium.

Stres juga mengganggu siklus ovarium. Stres memunculkan aktivasi aksis hipotalamus-hipofisis-adrenal (HPA) yang mengarah pada peningkatan sirkulasi glukokortikoid serta gangguan sekresi gonadotropin dan siklus ovarium. Sebuah studi menguji peningkatan glukokortikoid akibat stres mengganggu siklus ovarium dengan mengganggu urutan preovulasi kejadian endokrin yang diperlukan untuk lonjakan LH menemukan bahwa kortikosteron menahan siklus diestrus. Analisis hibridisasi *in situ* nukleus periventrikular anteroventral mengungkapkan bahwa kortikosteron dengan kuat menekan persentase sel KISS1 dan jumlah KISS1 mRNA per sel dibandingkan dengan ekspresi pada kontrol. Kortikosteron menumpulkan ekspresi hipofisis dari gen yang mengkode reseptor GnRH dan LH β , menunjukkan penghambatan gonadotrop selama penyumbatan lonjakan LH. Peningkatan kortikosteron mengganggu siklus ovarium melalui gangguan mekanisme umpan balik positif pada tingkat hipotalamus dan hipofisis yang diperlukan untuk menghasilkan lonjakan LH preovulasi (Luo, 2015).

6.4 Kadar Kortikosteron dan Ekspresi HBEGF

Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan ekspresi HBEGF secara signifikan pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol dengan nilai $p(0.000) < \alpha(0.05)$. Hal ini membuktikan bahwa stres yang terjadi secara terus menerus atau kronis dapat

mengakibatkan penurunan ekspresi HBEGF di endometrium *Rattus norvegicus*. Hasil ini didukung penelitian yang dilakukan oleh Zhao (2013) bahwa stres yang terjadi dalam masa peri implantasi dapat menyebabkan penurunan regulasi HBEGF baik di uterus (khususnya di endometrium) maupun di blastokista. Penurunan HBEGF didahului oleh adanya peningkatan secara signifikan kortikosteron setelah 8 jam dilakukan pemberian restrain stres.

6.4.1 Dampak penurunan HBEGF pada endometrium

HBEGF telah diidentifikasi sebagai mediator awal interaksi embrio-uterin selama implantasi dan diekspresikan baik dalam blastokista serta endometrium selama implantasi dan merupakan estrogen dan progesteron dependen (Horcajadas, 2018 ; Wang, 2018). Stres kronis menyebabkan kadar kortikosteron serum meningkat hal ini mengakibatkan kadar hormon estrogen dan progesteron di ovarium terganggu. Penurunan kadar hormon estrogen dan progesteron di ovarium juga berdampak pada kadar estrogen dan progesteron di endometrium. Sebuah penelitian menemukan adanya penurunan konsentrasi progesteron dan estrogen dalam serum sebagai akibat peningkatan kortikosteron (Lim, 2009 ; Zhao, 2013). Peningkatan kortikosteron berdampak gangguan homeostasis di endometrium yang berakibat menurunnya kadar HBEGF yang merupakan estrogen progesteron dependen (Wang, 2018).

Kortikosteron menghambat implantasi dikarenakan adanya perubahan pada jendela implantasi dan keterlibatan HBEGF, estrogen serta progesteron. Kortikosteron menghambat implantasi tikus secara temporal dan tergantung pada aktivasi blastokista dan reseptivitas endometrium melalui pengaturan HBEGF, estrogen, dan progesteron yang tidak teratur. Stres yang terjadi selama jendela implantasi akan mengganggu proses implantasi yang disebabkan baik dari sisi embrio maupun endometrium (Zao, 2013).

HBEGF diekspresikan di dalam sel-sel epitel luminal endometrium dan pada permukaan pinopoda. Disregulasi dalam ekspresi HBEGF dalam endometrium telah dikaitkan dengan infertilitas yang penyebabnya tidak dapat dijelaskan (*unexplained infertility*). HBEGF diperlukan untuk desidualisasi normal sel-sel stroma endometrium untuk mencapai keadaan reseptif di endometrium dan untuk inisiasi implantasi (Horcajadas, 2018, Lessey, 2016). Ekspresi HBEGF menunjukkan perubahan periodik mengikuti berbagai tahapan siklus menstruasi. Secara rinci ekspresi HBEGF rendah selama proliferasi, kemudian secara bertahap meningkat setelah ovulasi, dan akhirnya meningkat ke puncak pada saat implantasi. Oleh karena itu HBEGF telah diterima

sebagai salah satu penanda penting dari penerimaan endometrium (Song, 2016).

HBEGF melakukan dua fungsi simultan selama implantasi manusia sebagai faktor perlekatan dan faktor pertumbuhan. Dilaporkan bahwa HBEGF memainkan peran penting dalam persiapan epitel luminal uterus untuk perlekatan blastokista pada awal kehamilan. HBEGF sebagai faktor pertumbuhan berfungsi mempercepat perkembangan embrio manusia ke tahap blastokista dan selanjutnya menetas dari zona pelusida. HBEGF sebagai faktor perlekatan menyebabkan peningkatan banyak protein penting yang diekspresikan dari permukaan epitel luminal uterus seperti integrin $\alpha\beta3$, *Leukemia Inhibitory Factor* (LIF), dan HOXA10. Integrin $\alpha\beta3$ berfungsi untuk osteopontin untuk memediasi perlekatan embrio. LIF merangsang pengembangan embrio manusia ke tahap blastokista dan diperlukan untuk implantasi embrio. HOXA10 ditemukan di endometrium manusia selama fase pertengahan sekretori dan terlibat dalam implantasi dan desidualisasi endometrium selama awal kehamilan. Induksi HOXA10 oleh progesteron selama jendela implantasi menyebabkan penyumbatan dalam siklus sel stroma, memfasilitasi desidualisasi. Lebih lanjut HBEGF juga berkontribusi terhadap kelangsungan hidup trofoblas dan dapat memiliki efek menguntungkan dalam mencegah insufisiensi plasenta yang mengarah ke preeklampsia dan IUGR (Ozbilgin, 2015).

Terdapat perbedaan ekspresi HBEGF pada lokasi implantasi, dalam beberapa populasi sel yang berbeda di seluruh lokasi implantasi menunjukkan bahwa respon fisiologis terhadap HBEGF berbeda sesuai dengan tipe sel. HER1 dan HER2 diekspresikan secara berbeda oleh populasi trofoblas, HER1 mendominasi dalam sitotrofoblas vili, sedangkan HER2 ditemukan dalam sel-sel syncytiotrofoblas dan sitotrofoblas di bagian distal vili penahan. Ekspresi HBEGF berada di bawah kendali steroid ovarium selama siklus endometrium. Selama kehamilan, HBEGF terakumulasi dalam sel uterin dan trofoblas, hal ini menunjukkan bahwa ia berfungsi dalam berbagai proses seluler yang dapat mencakup mitogenesis, promosi invasi trofoblas, sitoproteksi dari hipoksia, dan remodeling pembuluh darah. Respon yang bervariasi ini dapat dihasilkan dari ekspresi lokal transmembran atau bentuk HBEGF yang disekresikan atau dari pola ekspresi untuk subtype reseptor EGF dalam sel target (Leach, 2009).

HBEGF menginduksi proliferasi sel endometrium melalui pengaktifan cascade sinyal ERK1/2 pada sel epitel dan peningkatan sintesis DNA serta *cyclin* D3 pada sel stroma (Lim, 2009 ; Strauss, 2014). Menurunnya kadar HBEGF berdampak pada terganggunya proliferasi dan angiogenesis endometrium, hal ini dapat berdampak pada

ketidakmampuan endometrium mencapai fase reseptifnya. Sekuensi gangguan proliferasi dan angiogenesis endometrium dapat diartikan terjadinya gangguan pada reseptivitas endometrium.

6.4.2 Dampak penurunan HBEGF pada blastokista

Penurunan HBEGF dikaitkan dengan penurunan daya proliferasi sel granulosa pada saat folikulogenesis. HBEGF yang diproduksi oleh oosit mampu merangsang proliferasi sel granulosa melalui jalur persinyalan parakrin. Selama folikulogenesis ekspresi HBEGF mengalami peningkatan ekspresi dalam fase pertumbuhan sekunder yang cepat (Luo, 2015).

Pada korpus luteum, mRNA HBEGF dapat dideteksi pada hari ke 4, 10, dan 20 dari siklus estrus dan paling melimpah pada hari ke 4 selama pertumbuhan dan perkembangan korpus luteum. Implantasi blastokista pada uterus tikus dihubungkan dengan ekspresi HBEGF, yang dapat dideteksi 1 hari setelah kawin dengan hibridisasi *in situ* dalam epitel uteri luminal dan kelenjar. Namun HBEGF kemudian tidak terdeteksi sampai hari ke 4 dan diekspresikan kembali 6 jam sebelum implantasi blastokista dalam epitel luminal dan hanya diekspresikan pada lokasi invasi ke dinding uterus. mRNA HBEGF juga dapat dideteksi setelah implantasi di berbagai jaringan (epitel dan sel stroma yang mengelilingi embrio, zona desiduas sekunder, embrio). Transmembrane HBEGF memfasilitasi adhesi sel myeloid tikus pada blastokista pada hari ke-4 dalam kultur bersama dalam reseptor EGF dan cara bergantung proteoglikan heparin sulfat. HBEGF terlarut menginduksi fosforilasi reseptor EGF tirosin pada blastokista, juga meningkatkan jumlah blastokista, dan meningkatkan kecepatan penetasan zona pelusida blastokista. Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi HBEGF dalam rahim adalah untuk mempromosikan adhesi, pertumbuhan dan diferensiasi blastokista. Adanya gangguan pada ekspresi HBEGF blastokista akan mengakibatkan terganggunya penetasan blastokista dari zona pelusida yang pada akhirnya mengagalkan implantasi (Raab, 2017).

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan pada penelitian ini bahwa ekstrak daun *Annona squamosa* pada konsentrasi 30% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara signifikan dan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun *Annona squamosa* maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Ekstrak daun *Annona squamosa* juga mampu membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 32,5% secara signifikan. Saran yang bisa diberikan pada penelitian ini adalah dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efektifitas daun *Annona squamosa* secara *In Vivo* untuk mengetahui efek farmako terhadap tubuh manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Ade Harshindy, N., & Budi Raharjo, B. (2022). Analisis Pelaksanaan Program ASI Eksklusif di Posyandu Article Info. *Indonesian Journal of Public Health and Nutrition*, 2(1), 60–66. Retrieved from <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/IJPHN>
- Al-Judaibi, A., Al-Zahrani, A., Altammar, K. A., Ismail, S. B., & Darweesh, N. T. (2014). Comparative study of antibacterial activity of plant extracts from several regions of Asia. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 9(2), 139–147. <https://doi.org/10.3844/ajptsp.2014.139.147>
- Anaya-Esparza, L. M., García-Magaña, M. de L., Abraham Domínguez-Ávila, J., Yahia, E. M., Salazar-López, N. J., González-Aguilar, G. A., & Montalvo-González, E. (2020). Annonas: Underutilized species as a potential source of bioactive compounds. *Food Research International*, 138(June). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109775>
- Bambang Ari Purwoko, O. H. and H. (2019). Gambaran Masalah Pemberian Asi Pada Ibu Di Wilayah Kerja Puskesmas Palmatak. *JOM FKp*, 7(1), 96–103. Retrieved from <https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMPSIK/article/view/29522>
- Centers For Disease Control and Prevention. (2013). Biggest Threats Antibiotic/Antimicrobial Resistance. Retrieved from <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>
- Hosseiniabadi, T. (2021). The Medicinal Importance of Annona squamosa fruits. *Journal of Exploratory Research in Pharmacology*, 000(000), 000–000. <https://doi.org/10.14218/jerp.2020.00039>
- Ika Trisanti dan Nasriyah. (2019). Mastitis (Literature Review). *Jurnal Ilmu Keperawatan Dan Kebidanan*, 10(2), 330–337. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.26751/jikk.v10i2.729>
- Jamaruddin S, R. N. A., Ferawati Taherong, & Syatirah. (2022). Manajemen Asuhan Kebidanan Berkelanjutan Post Natal Pada Ny"W" Dengan Bendungan Asi Hari Ketiga Sampai 31 Hari Masa Nifas Di Puskesmas Bara Baraya. *Jurnal Midwifery*, 4(2), 32–41. <https://doi.org/10.24252/jmw.v4i2.29549>
- Jangnga, I. D., Kambaya, P. P., & Kosala, K. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Dan Analisis Bioautografi Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Srikaya (Annona Squamosa L) Terhadap Enterococcus Faecalis Secara in Vitro. *ODONTO : Dental Journal*, 5(2), 102. <https://doi.org/10.30659/odj.5.2.102-109>
- Kamoda, H., Lelyana, S., & Sugiaman, V. K. (2020). <p>Kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum ekstrak etanol lengkuas merah (Alpinia galanga L.) terhadap pertumbuhan Candida albicans</p><p>The minimum inhibitory concentration and a minimum lethal dose of red galangal (Alpinia galanga L.) ethanolic ex. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 32(1), 1. <https://doi.org/10.24198/jkg.v32i1.25422>
- Karunia, S. D., Supartono, & Sumarni, W. (2017). Analisis Sifat Anti Bakteri Ekstrak Biji Srikaya (Annona squamosa L) dengan Pelarut Organik. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(1), 56–60. Retrieved from

- Kementerian Kesehatan. Peraturan Pemerintah Tentang Pemberian ASI Eksklusif Nomor 33 tahun 2012 (2012). Indonesia: Departemen Kesehatan.
- Kumar, M., Changan, S., Tomar, M., Prajapati, U., Saurabh, V., Hasan, M., ... Mekhemar, M. (2021). Custard apple (*Annona squamosa* L.) leaves: Nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting biological activities. *Biomolecules*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/biom11050614>
- Mohammad Zahid, E. al. (2018). *Annona Squamosa* Linn (Custard Apple): An Aromatic Medicinal Plant Fruit With Immense Nutraceutical And Therapeutic Potentials. *IJPSR*, 9(5), 1745–1759. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9\(5\).1745-59](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9(5).1745-59)
- Rahmadani, Budiyo, S. (2017). Gambaran Keberadaan Bakteri *Staphylococcus Aureus*, Kondisi Lingkungan Fisik, Dan Angka Lempeng Total Di Udara Ruang Rawat Inap Rsud Prof. Dr. M.a Hanafiah Sm Batusangkar. *Jurnal Kesehatan Masyarakat (e-Journal)*, 5(5), 492–501. Retrieved from <http://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jkm%0AGAMBARAN>
- Santhoshkumar, R., & Kumar, N. S. (2016). Phytochemical analysis and antimicrobial activities of *Annona squamosa* (L.) leaf extracts. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 36(1), 144–148. <https://doi.org/https://doi.org/10.35790/ebm.v4i2.14344>
- Sundaramahalingam, M. A., Karthikumar, S., Shyam Kumar, R., Samuel, K. J., Shajahan, S., Sivasubramanian, V., ... Ganesh Moorthy, I. (2021). An intensified approach for transesterification of biodiesel from *Annona squamosa* seed oil using ultrasound-assisted homogeneous catalysis reaction and its process optimization. *Fuel*, 291(December 2020), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.120195>
- Swantara, I. M. D., Damayanti, P. A., & Suirta, I. W. (2022). Identifikasi Serta Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid Ekstrak Daun Srikaya (*Annona Squamosa* Linn). *Jurnal Kimia*, 16(1), 45. <https://doi.org/10.24843/jchem.2022.v16.i01.p06>
- Tansil, A. Y. M., Nangoy, E., Posangi, J., Bara, R. A., Farmakologi, B., Kedokteran, F., ... Manado, R. (2016). Uji daya hambat ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Kandidat Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado oleh masyarakat Alor Utara di Nusa Tenggara Timur. *Jurnal E-Biomedik*, 4(2).
- Vijayalakshmi, S. L. R., & Nithiya, T. (2015). Antimicrobial Activity of Fruit Extract of *Annona*. *Nithiya et Al. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(05), 1257–1267. Retrieved from https://www.wjpps.com/wjpps_controller/abstract_id/3098
- Xiao, Z.-T., Zhu, Q., & Zhang, H.-Y. (2014). Identifying antibacterial targets of flavonoids by comparative genomics and molecular modeling. *Open Journal of Genomics*, 3, 1. https://doi.org/10.13055/ojgen_3_1_1.140317

Lampiran 2

Prosedur Pemberian *Chronic Upredictable Mild Stress (CUMS)*

No.	Jenis Perlakuan	Intensitas dan Durasi	Waktu	Operasional
1.	Diberi benda asing pada kandang	24 jam (pukul 09.00-09.00)		Setiap kandang diberi 2 buah bola plastik dengan diameter 10cm. 
2.	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 – 6 ekor tikus (<i>overcrowding</i>)	24 jam (pukul 09.00 – 09.00)		Kandang dengan ukuran standar diisi 5 – 6 ekor tikus. Jumlah pakan dan botol minum disesuaikan dengan jumlah tikus yang ada dalam 1 kandang. 
3.	Berenang di air dingin	1 x sehari selama 3 menit	Pagi hari (pukul 09.00)	Air ditampung dalam ember ukuran sedang dan menggunakan air PDAM yang diberi es kering dengan suhu 4°C. ketinggian air ± 10 cm dari dasar ember, diperkirakan setinggi dada – leher tikus saat ia berusaha berdiri.

				
4.	Isolasi di ruang sempit dan gelap	24 jam (pukul 09.00 – 09.00)		<p>Kandang ukuran standar diberi sekat dari kayu tripleks sehingga menjadi 4 ruang. Pada masing – masing ruang diisi 1 ekor tikus. Kandang tersebut di tutupi menggunakan kardus tebal untuk mendapatkan efek gelap.</p> 
5.	Imobilisasi	1 x sehari selama 2 jam	Pagi hari (pukul 09.00)	<p>Setiap satu ekor tikus dimasukkan ke dalam <i>wire mesh restrainer</i> yang dimodifikasi (pipa paralon yang diberi lubang udara dan kedua ujungnya di tutup kassa kawat). Ukuran paralon yang digunakan adalah 1 ½ dim, yang diperkirakan sesuai dengan ukuran tubuh tikus sehingga tikus tidak dapat berputar, maju dan mundur.</p>  

6.	Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt)	2x sehari selama 45 menit	Pagi (pukul 09.00) dan sore (pukul 15.30)	<p>Lampu LED berkekuatan 4 watt yang diletakkan pada lampu duduk diatur dengan ketinggian 30 cm dan disorotkan ke kandang rattus. Kandang standar berisi 2 – 3 ekor tikus.</p> 
7.	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 ekor tikus (<i>overcrowding</i>) dan Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt)	2x sehari selama 45 menit	Pagi (pukul 09.00) dan sore (pukul 15.30)	<p>Lampu LED berkekuatan 4 watt yang diletakkan pada lampu duduk diatur dengan ketinggian 30 cm dan disorotkan ke kandang rattus. Kandang dengan ukuran standar diisi 5 – 6 ekor tikus. Jumlah pakan dan botol minum disesuaikan dengan jumlah tikus yang ada dalam 1 kandang.</p> 
8.	Ditusuk ekornya dengan jarum	1 x sehari selama 1 jam	Pagi hari (pkl. 09.00)	Ekor tikus ditusuk menggunakan jarum sepanjang $\pm 2,5$ cm.

				
9.	Diikat ekornya dengan benang	1 x sehari selama 1 jam	Pagi hari (pk. 09.00)	<p>Ekor tikus diikat di 1/3 bagian panjang ekor dari pangkal. Pengikatan dilakukan dengan kuat tanpa mengganggu vaskularisasi ekor tikus. Apabila ekor tampak kebiruan, maka ikatan akan dilonggarkan atau dilepaskan terlebih dahulu. Benang yang digunakan adalah jenis benang wol yang tebal namun tidak kaku, sehingga tidak licin jika diikatkan pada ekor tikus.</p> 

Lampiran 5

Daftar Perilakuann *Chronic Upredictable Mild Stress (CUMS)*

Hari ke-	Hari Perlakuan	Stresor (lama perlakuan)
8		Sikronisasi birahi menggunakan pgf2 α (suntikan pertama)
9		
10		Sikronisasi birahi menggunakan pgf2 α (suntikan kedua)
11	1	Benda asing (bola plastik dengan diameter 10 cm) (24 jam)
12	2	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 ekor tikus (<i>overcrowding</i>) (24 jam)
13	3	Berenang di air dingin (3 menit)
14	4	Isolasi di ruang sempit dan gelap (24 jam)
15	5	Immobilisasi dengan wire mesh restrainer (2 jam)
16	6	Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt) dilakukan 2x sehari (45 menit)
17	7	Tanpa stressor
18	8	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 ekor tikus (<i>overcrowding</i>) dan Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt) dilakukan 2x sehari (45 menit)
19	9	Ditusuk ekornya dengan jarum sepanjang \pm 2,5 cm (1 jam)
20	10	Isolasi di ruang sempit dan gelap (24 jam)
21	11	Diikat ekornya dengan benang (1 jam)
22	12	Tanpa stressor
23	13	Diikat ekornya dengan benang (1 jam)
24	14	Immobilisasi dengan wire mesh restrainer (2 jam)
25	15	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 ekor tikus (<i>overcrowding</i>) (24 jam)
26	16	Benda asing (bola plastik dengan diameter 10 cm) (24 jam)
27	17	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 ekor tikus (<i>overcrowding</i>) dan Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt) dilakukan 2x sehari (45 menit)
28	18	Ditusuk ekornya dengan jarum sepanjang \pm 2,5 cm (1 jam)
29	19	Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt) dilakukan 2x sehari dilakukan 2x sehari (45 menit)
30	20	Berenang di air dingin (3 menit)
31	21	Visualisasi vaginal plug dan Terminasi

Lampiran 6

Metode Sinkronisasi Birahi

Penelitian diawali dengan sinkronisasi birahi dengan menyuntikkan hormon PGF2 α komersial (Lutaprost[®] 250, Agrivet, USA) dengan dosis 25 μ g/g BB sebanyak dua kali dengan interval waktu suntik dua hari. Metode sinkronisasi ini biasa dikenal dengan sinkronisasi dobel injeksi prostaglandin. Prostaglandin bekerja untuk melisiskan korpus luteum dalam ovarium dan diikuti dengan kejadian birahi.

Penyuntikan hormon pertama bertujuan untuk memperoleh keseragaman kondisi semua hewan percobaan pada fase luteal sehingga memiliki respon yang efektif terhadap penyuntikan hormon yang kedua.

Lampiran 7

Prosedur Kerja Metode ELISA

Elabscience Rat CORT (korticosterone) ELISA Kit (Nomor Katalog E-EL-R0269)

A. Persiapan Reagen

- 1) Persiapan sampel dan reagen, diletakkan pada suhu ruang (18 – 25°C) terlebih dahulu selama minimal 15 menit.
- 2) Membuat larutan *Wash Buffer*: cairkan 30 mL *Concentrated Wash Buffer* dengan 720 mL air deionisasi atau suling untuk mendapatkan 750 mL *Wash Buffer*. Jika pada larutan terbentuk kristal, maka hangatkan dalam 40°C *water bath* dan campurkan perlahan sampai kristal benar – benar terlarut.
- 3) Membuat larutan *Standard* : sentrifugasi standar dalam 10,000xg selama 1 menit. Tambahkan 1.0 mL *Reference Standard & Sample Diluent*, diamkan selama 10 menit dan balikkan dengan lembut beberapa kali. Setelah larut sepenuhnya, aduk rata dengan pipet. Rekonstitusi ini menghasilkan *working solution* 200 ng/mL, kemudian buat pengenceran serial sesuai kebutuhan. Gradien pengenceran yang direkomendasikan antara lain : 200, 100, 50, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 0 ng/mL.

Metode pengenceran membutuhkan 7 EP tube, tambahkan 500 uL *Reference Standard & Sample Diluent* pada tiap tube. Pipet 500 uL dari larutan 200ng/mL *working solution* untuk tube pertama dan campurkan untuk menghasilkan 100ng/mL *working solution*. Pipet 500 uL larutan dari tabung sebelumnya hingga tabung terakhir sesuai dengan langkah-langkah ini. Tabung terakhir dianggap kosong, jangan pipet larutan dari tabung sebelumnya.

- 4) Membuat larutan *Biotinylated Detection Ab*: hitung jumlah yang diperlukan sebelum percobaan (50 µL/well). Pada saat persiapan, lebihkan sedikit larutan dari hasil perhiungan. Centrifus tabung stok sebelum digunakan, encerkan 100x *Concentrated Biotinylated Detection Ab* pada 1x *working solution* dengan *Biotinylated Detection Ab Diluent*.
- 5) Membuat larutan *HRP Conjugate* : hitung jumlah yang diperlukan sebelum percobaan (100 µL/well). Pada saat persiapan, lebihkan sedikit larutan dari hasil perhiungan. Encerkan 100x *Concentrated HRP Conjugate* pada 1x *working solution* dengan *Concentrated HRP Conjugate Diluent*.

B. Prosedur Assay :

- 1) Menambahkan *standard working solution* pada dua kolom pertama. Setiap konsentrasi larutan ditambahkan dalam rangkap dua (teknik duplo), untuk satu masing-masing well dan berdampingan (50 uL tiap well). Tambahkan sampel pada well berikutnya (50 uL tiap well). Segera tambahkan 50µL *Biotinylated Detection Ab working solution* pada setiap well. Tutup plate dengan sealer yang telah tersedia dalam Kit. Inkubasi selama 45 menit dalam suhu 37°C.

Cairan ditambahkan pada bagian dasar mikro ELISA *plate well*, cegah agar bagian dalam dinding *microplate* tidak tersentuh atau terjadi busa.

- 2) Setelah 45 menit, buang cairan pada well. Masukkan dalam mesin washing (Imunowashing®) yang telah diatur untuk mencuci well sebanyak 3x dengan *wash buffer* sebanyak 350 µl
- 3) Tambahkan 100 µl *HRP conjugated working solution* pada tiap well. Tutup dengan sealer dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
- 4) Setelah 30 menit, buang cairan pada well. Masukkan dalam mesin washing (Imunowashing®) yang telah diatur untuk mencuci well 5 kali dengan *wash buffer*.

- 5) Tambahkan 90 μ l *substrate reagent* pada tiap well, tutup dengan sealer dan inkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C. Lindungi plate dari cahaya langsung. Perubahan warna bisa saja tampak sebelum atau lebih dari 15 menit, namun tidak lebih dari 30 menit.
- 6) Tambahkan 50 μ l *stop solution* pada tiap well. Penambahan *stop solution* harus dilakukan dengan urutan yang sama dengan penambahan *substrate solution*.
- 7) Baca absorbansinya pada panjang gelombang 450 nm menggunakan mesin *mikro-plate reader*.
- 8) Hitung hasilnya berdasarkan persamaan garis linier antara konsentrasi standar dan OD 450 nm.

ANALISIS RERATA PERUBAHAN BERAT BADAN *Rattus norvegicus*

Case Processing Summary

	Kelompok	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
perubahanBB	kontrol	15	100.0%	0	0.0%	15	100.0%
	perlakuan	16	100.0%	0	0.0%	16	100.0%

Descriptives

	Kelompok	Statistic	Std. Error		
perubahanBB	kontrol	Mean	14.6213	1.28650	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	11.8621	
			Upper Bound	17.3806	
		5% Trimmed Mean		14.5554	
		Median		15.1400	
		Variance		24.826	
		Std. Deviation		4.98259	
		Minimum		6.98	
		Maximum		23.45	
		Range		16.47	
	Interquartile Range		8.76		
	Skewness		-.137	.580	
	Kurtosis		-.756	1.121	
	perlakuan	Mean	-13.2925	2.06515	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-17.6943	
			Upper Bound	-8.8907	
		5% Trimmed Mean		-13.4650	
Median			-14.8300		
Variance			68.237		
Std. Deviation			8.26059		
Minimum			-25.33		
Maximum			1.85		
Range			27.18		
Interquartile Range		13.28			
Skewness		.493	.564		
Kurtosis		-.794	1.091		

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
perubahanBB	kontrol	.119	15	.200*	.951	15	.538
	perlakuan	.175	16	.200*	.943	16	.393

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

T-Test

Group Statistics

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
perubahanBB	kontrol	15	14.6213	4.98259	1.28650
	perlakuan	16	-13.2925	8.26059	2.06515

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
perubahanBB	Equal variances assumed	5.115	.031	11.295	29	.000	27.91383	2.47124	22.85958	32.96809
	Equal variances not assumed			11.473	24.886	.000	27.91383	2.43309	22.90163	32.92604

ANALISIS KADAR KORTIKOSTERON SERUM

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Perlakuan	15	93.8%	1	6.3%	16	100.0%
Kontrol	15	93.8%	1	6.3%	16	100.0%

Descriptives

		Statistic	Std. Error	
Perlakuan	Mean	72.84273	16.533445	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	37.38202	
		Upper Bound	108.30345	
	5% Trimmed Mean	64.95587		
	Median	47.91500		
	Variance	4100.322		
	Std. Deviation	64.033758		
	Minimum	22.700		
	Maximum	264.949		
	Range	242.249		
	Interquartile Range	51.881		
	Skewness	2.282	.580	
	Kurtosis	5.618	1.121	
	Mean	23.29833	2.176524	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	18.63015	
Upper Bound		27.96651		
5% Trimmed Mean	22.90881			
Median	20.61300			
Variance	71.059			
Kontrol	Std. Deviation	8.429640		
	Minimum	15.004		
	Maximum	38.604		
	Range	23.600		
	Interquartile Range	13.279		
	Skewness	.801	.580	
	Kurtosis	-.714	1.121	

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Perlakuan	.258	15	.008	.722	15	.000
Kontrol	.207	15	.084	.860	15	.024

a. Lilliefors Significance Correction

Mann-Whitney Test

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol	15	9.23	138.50
kortikosteron	perlakuan	16	22.34	357.50
	Total	31		

Test Statistics^a

	kortikosteron
Mann-Whitney U	18.500
Wilcoxon W	138.500
Z	-4.013
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap (dengan gelar)	Risya Secna Primmdari, S.Keb., Bc., M.Kes
2	Jenis Kelamin	Perempuan
3	Jabatan Fungsional	Asisten Ahli
4	NIP/NIK	19930127 202101 200
5	NIDN	0727019301
6	Tempat dan Tanggal Lahir	Jombang, 27 Januari 1993
7	E-mail	risyasecha@gmail.com
8	Nomor Telepon/HP	085730583384
9	Alamat Asal	K1 002 RW 002 Dusun Mojoguring, Desa Karangmojo, Kecamatan Plandaan, Kabupaten Jombang
10	Nomor Telepon/Fax	-
11	Mata Kuran yang Diampu	<ol style="list-style-type: none"> 1. Biologi Reproduksi 2. Asuhan Kebidanan 3. Pengantar Asuhan Kebidanan 4. Anatomi Fisiologi 5. Evidence Based Midwifery 6. Bahasa Indonesia 7. Pemeriksaan Fisik Ibu dan Bayi 8. KB dan Pelayanan Kontrasepsi

B. Riwayat Pendidikan

	S-1	Profesi	S-2
Nama Perguruan Tinggi	Universitas Airlangga	Universitas Airlangga	Universitas Airlangga
Bidang Ilmu	Kebidanan	Kebidanan	Ilmu Kesehatan Reproduksi
Tahun Masuk-Lulus	2011-2015	2015-2016	2017-2020
Judul Skripsi/ Tesis/ Disertasi	Faktor Risiko Terjadinya Inkontinensia Urin Tipe Stres Pada Pasien Perempuan di Poli Geriatri RSUD Dr. Soetomo Surabaya	-	Peningkatan Kadar Kortikosteron Akibat Stres Kronis Terhadap Ekspresi HbEGF Sebagai Penanda Gangguan Reseptivitas Endometrium
Nama Pembimbing/Promotor	<ol style="list-style-type: none"> 1. Eighty Mardiyana Kurniawati, dr., Sp.OG (K) 2. Djohar Nuswanto, dr., MPH 	-	<ol style="list-style-type: none"> 1. Dr. Ashon Sa'adi, dr., Sp.OG (K) 2. Dr. Reny I'tishom, M.Si 3. Dr. Margarita M. Maramis, dr., Sp.KJ (K) 4. Dr. Sri Ratna Dwiningsih, dr., Sp.OG(K)

C. Pengalaman Penelitian Dalam 5 Tahun Terakhir

(Bukan Skripsi, Tesis dan Disertasi)

No.	Tahun	Judul Penelitian	Pendanaan	
			Sumber*	Jml (Juta Rp)
1	2022	Elevated Corticosterone Level Due To	Pribadi	

*Tuliskan sumber pendanaan baik dari skema penelitian DRPM maupun dari sumber lainnya.

D. Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakat dalam 5 Tahun Terakhir

No.	Tahun	Judul Pengabdian Kepada Masyarakat	Pendanaan	
			Sumber*	Jml (Juta Rp)
1	2021	Penyuluhan tentang “Gastroenteritis pada Anak”	Institusi	1.000.000

*Tuliskan sumber pendanaan baik dari skema penelitian DRPM maupun dari sumber lainnya.

E. Publikasi Artikel Ilmiah Dalam Jurnal dalam 5 Tahun Terakhir

No	Judul Artikel Ilmiah	Nama Jurnal	Volume/ Nomor/Tahun
1	Elevated Corticosterone level Due To Chronic Stress on Hb-Egf Expression as a Marker of Endometrial Receptivity Disorder in <i>Rattus norvegicus</i>	Indian Journal of Public Health Research & Development	¹ 1451, 2019

F. Pemakalah Seminar Ilmiah (Oral Presentation) dalam 5 Tahun Terakhir

-

G. Karya Buku dalam 5 Tahun Terakhir

-

H. Perolehan HKI dalam 5 Tahun Terakhir

-

I. Pengalaman Merumuskan Kebijakan Publik/Rekayasa Sosial Lainnya dalam 5 Tahun Terakhir

-

J. Penghargaan dalam 5 tahun Terakhir (dari pemerintah, asosiasi atau institusi lainnya)

No.	Jenis Penghargaan	Institusi Pemberi Penghargaan	Tahun
1			
Dst.			

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidak-sesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Lamongan, 13 Februari 2022



(Risya Secha Primindari, S.Keb., Bd.,
M.Kes)

