

MEKANISME PERBAIKAN PERKEMBANGAN FOLIKEL PADA *RATTUS NORVEGICUS* MODEL SOPK DENGAN RESISTENSI INSULIN YANG DIBERI EKSTRAK SAMBILOTO

Hany Puspita Aryani¹, Budi Santoso², Widjiati³

^{1,2}Dosen STIKes Husada Jombang, ³Universitas Airlangga

Korespondensi : hanyuspita99@yahoo.co.id

Abstrak

Seiring bertambah banyaknya kasus kejadian SOPK- resistensi insulin yang terjadi angka kejadian 69% (Samsulhadi, 2003), yang mengakibatkan kesulitan untuk mendapatkan anak khususnya pasangan usia subur (infertilitas). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui mekanisme perbaikan perkembangan folikel pada *rattus norvegicus* model sopk dengan resistensi insulin yang diberi ekstrak sambiloto. Penelitian ini eksperimen laboratories, jenis rancangan acak lengkap dengan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sebanyak 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibagi secara acak menjadi 5 kelompok masing-masing terdiri 5 ekor tikus putih. Kelompok kontrol (K) ada 2 yaitu K- tidak mendapat perlakuan, K+ dibuat model SOPK- resistensi insulin dengan pemberian testosterone propionate 28 hari. Kelompok perlakuan ekstrak sambiloto dosis 18 mg/ 100g bb /hari, kelompok perlakuan ekstrak sambiloto dosis 36 mg/ 100g bb /hari, kelompok perlakuan ekstrak sambiloto dosis 72 mg/ 100g bb /hari. Pemberian perlakuan diberikan satu kali sehari, dilaksanakan selama 4 siklus birahi tikus putih atau 15 hari. Hasil penelitian bahwa rerata dari uji Anova yang terbesar dengan nilai 8.0000 adalah folikel primer pada kelompok K- dan diikuti kelompok P1 dan P3 ekstrak sambiloto dosis 18 mg dan 36 mg dengan nilai rerata sebesar 6.8000. Hasil uji normalitas dengan oneway sample kolmogorov smirnov test bahwa variabel folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier, folikel de Graff mempunyai nilai $p > 0.05$ disimpulkan data berdistribusi normal. Hasil uji LSD terdapat perbedaan yang bermakna antara perkembangan folikel primer kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dengan nilai p sebesar 0.031, dan perkembangan folikel de Graff kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan nilai p sebesar 0.002, maka dengan ini disimpulkan terdapat hubungan yang bermakna dengan penggunaan ekstrak sambiloto. Perlunya penggunaan dosis yang tepat dan waktu yang lebih lama dari ekstrak sambiloto dalam memperbaiki perkembangan folikel.

Kata Kunci : Folikel, *Rattus Norvegicus* Model SOPK, Ekstrak Sambiloto

A. PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan penyakit endokrin yang berpengaruh terhadap sistem reproduksi khususnya pada wanita yang menyebabkan anovulasi. Keadaan anovulasi beresiko menjadi infertilitas, yang akan menjadi masalah yang sangat meresahkan khususnya bagi pasangan usia reproduktif yang menginginkan keturunan. Salah satu penyebab terjadinya infertilitas pada wanita usia reproduktif adalah Sindroma Ovarium Polikistik (SOPK). Wanita dengan SOPK sering mengalami anovulasi yang menyebabkan masalah yang berat apabila tidak mendapat penanganan yang tepat. Kelainan endokrin yang melibatkan 5%-10% wanita dalam masa reproduksi paling banyak dikarenakan oleh kejadian infertilitas (Azziz, 2005).

Resistensi Insulin, obesitas, gangguan metabolic dan infertilitas juga sering dikaitkan dengan Sindroma Ovarium Polikistik. Kerja insulin yang terganggu menyebabkan terjadinya Hiperinsulinemia (peningkatan sekresi androgen di ovarium). Hal tersebut disertai dengan perkembangan folikel yang abnormal, sehingga menyebabkan gangguan fungsi ovarium. Peningkatan hipertekosis stroma ovarium yang didiagnosa dengan ditemukannya pulau-pulau sel teka yang mengalami luteinisasi dalam stroma ovarium ditunjukkan pada wanita dengan SOPK. Perubahan morfologi ovarium lebih jelas terlihat pada SOPK yang resisten insulin, yang menunjukkan bahwa hiperinsulinemia memengaruhi morfologi dan fungsi ovarium (Dunaif, 1996). Goldseher menjelaskan bahwa pada SOPK didapatkan 20-50% mengalami resistensi insulin. Terjadinya disfungsi aktifitas sel beta dan sensitifitas insulin pada wanita SOPK dengan resistensi insulin, dimana menunjukkan gambaran resistensi insulinnya lebih menonjol (Dunaif, 2002).

Sambiloto adalah jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai obat anti diabetes mellitus. Herbal dan percabangannya mengandung *diterpen laktone* yang terdiri dari *Andrografolide* (Niranjan, 2010, Sudarsono, 2006). Sambiloto mengandung *Andrographolida*, yaitu *glikosida diterpenoid* yang dapat digunakan sebagai diuretika, antipireutik dan analgesik (Yuliah, 2001). Ekstrak sambiloto dapat melepaskan insulin dan menghambat absorpsi glukosa melalui penghambatan enzim *alfaglukosidas* dan *alfaamilase*. Enzim *glukosidase* (*maltase, isomerase, glukomerase dan sukrase*) berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida pada dinding usus halus sehingga inhibisi pada enzim ini dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya (Subramanian dkk, 2008).

Pemberian obat herbal yang berasal dari tumbuhan seperti sambiloto dapat menjadi alternatif obat diabetes militus yang dapat mengurangi kadar gula darah. Beberapa penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa peningkatan kadar tetosterone dalam darah akan menyebabkan ratio *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) / *Luteinizing Hormone* (LH) terganggu dan bila kondisi ini dibiarkan tanpa penanganan segera akan menyebabkan sistiks/ kista pada ovarium. Terjadi karena adanya hubungan umpan balik mekansme dengan kadar esterogen yang selalu tinggi sehingga tidak pernah terjadi kenaikan yang cukup kuat terhadap kadar FSH. Kenaikan kadar hormone LH merangsang sintesis androgen, sedangkan peningkatan kadar androstenedion di perifer di ubah menjadi estron. Kenaikan kadar tetosterone akan menekan sekresi *Sex Hormone Binding Globulin* (SHBG) di hati, sedangkan kadar tetosteron dan estradiol bebas meningkat. Kadaresteron dan estradiol yang meningkat akan memberikan umpan balik terhadap kenaikan LH. Sedangkan kadar FSH rendah namun masih terjadi pertumbuhan folikel, sehingga terjadi penumpukan folikel kecil berjajar tetapi tidak membesar dan tidak ovulasi (Samsulhadi,1999).

Pada penelitian ini penulis berusaha memberikan terapi alternatif lain yaitu ekstrak sambiloto sebagai obat herbal dalam pengobatan SOPK dengan resistensi Insulin yang biasanya menggunakan metformin. Mengingat akan etis penelitian ini menggunakan tikus sebagai percobaan dalam penelitian ini. Sampai saat ini belum ditemukan adanya penelitian terkait pemberian ekstrak sambiloto dengan penurunan kadar gula pada wanita SOPK dengan resistensi insulin.

B. METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain penelitian *post test only control group design*. Menggunakan hewan sebagai uji coba *Rattus norvegicus* yang dibuat model SOPK dengan resistensi insulin sebagai ganti manusia untuk penelitian lebih invasive karena selama ini terhalang etis pada pelaksanaannya. Menggunakan hewan coba *Rattus norvegicus* betina usia 3 bulan dengan berat badan sekitar 100-250gr. Beberapa bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *testosteron propionate*, kapas, NaCl Fisiologis, ekstrak sambiloto , aquadest steril, etanol 95%, pakan tikus BR 1, Air PAM, formalin 10%. Sesuai Reyes 2006.

Pembuatan ekstrak sambiloto dengan metode pengekstrakan dengan cara freeze-dry dengan dosis 18 mg, 36 mg dan 72 mg yang diberikan pada

masing- masing kelompok tikus. Diberikan sehari sekali dengan dilarutkan 1 cc aquadest sesuai kapasitas lambung tikus dan diberikan dengan cara sonde sebelum makan.

Pembuatan *Rattus norvegicus* model SOPK dengan resistensi insulin oleh Santoso, Widjiati, Muttaqin, 2008 yaitu dengan cara *Rattus norvegicus* diinjeksi *testosteron propionate* secara intramuscular dibagian paha setiap hari sekali sebanyak 0.1 ml selama 28 hari. Akan menunjukkan gambaran corpus luteum, adanya ovarium polikistik, hipertekosis pada stroma serta penipisan atau atresi sel granulosa, hiperandrogen, keadaan hiperandrogen yang akan meningkatkan kadar asam lemak bebas. Pada pemeriksaan swab vagina menunjukkan gambaran diestrus pada tikus yang diinjeksi *testosteron propionat* selama 28 hari.

Pada uji ini digunakan lima (5) kelompok, yaitu (1) kelompok 1 kelompok kontrol normal atau negative tidak mendapat perlakuan apapun, (2) kelompok 2 kelompok kontrol positif *Rattus norvegicus* SOPK - RI yang tidak mendapatkan intervensi ekstrak sambiloto hanya diberi aquadest, dan tiga (3) kelompok perlakuan. Yaitu : Kelompok 3 yaitu *Rattus norvegicus* SOPK-RI yang diberi ekstrak sambiloto (ES) dengan dosis 18 mg selama 15 hari; (4) Kelompok 4 yaitu tikus SOPK-RI yang diberi ekstrak sambiloto berdosisi 36 mg selama 15 hari; (5) Kelompok 5 yaitu tikus SOPK-RI yang diberi ES dengan dosis 72 mg selama 15 hari. Diperlukan untuk mengetahui antara pemberian bahan uji ES secara perbandingan dengan dosis yang berbeda- beda yaitu 18 mg, 36 mg dan 72mg. Kelompok variasi dosis uji diperlukan untuk mengetahui dosis yang berguna terhadap ekstrak sambiloto dalam meningkatkan perbaikan perkembangan folikel. Pengukuran perkembangan folikel dengan cara mengukurnya diamati menggunakan mikroskop cahaya pada pembesaran 100x, 400x, 1000x.

Pembuatan preparat ovarium sebagai berikut:

1. **Tahap Fiksasi.** Ovarium pada larutan formalin 10% selama 1 jam, langkah fiksasi diulang sebanyak 2 kali pada larutan yang berbeda.
2. **Tahap Dehidrasi.** Ovarium yang sudah difiksasi dilanjutkan didehidrasi pada larutan ethanol 70 % selama 1 jam, selanjutnya objek di pindah dalam larutan ethanol 80%, setelah itu lanjut pada larutan ethanol 95 % sebanyak 2 kali dan dalam ethanol asolut selama 1 jam dan diulang sebanyak 2 kali pada ethanol absolut yang berbeda.

3. **Tahap *Clearing* (Penjernihan).** Pada tahapan ini ovarium dijernihkan untuk menarik kadar ethanol dengan menggunakan larutan *xylene* I selama 1,5 jam dan dilanjutkan ke larutan *xylene* II selama 1,5 jam.
4. **Tahap *Embedding*.** Pada tahap ini ovarium dimasukkan kedalam kaset dan diinfiltrasi dengan menuangkan paraffin yang dicairkan pada suhu 60oC, kemudian paraffin dibiarkan mengeras dan dimasukkan ke dalam freezer selama \pm 1 jam.
5. **Tahap *Sectioning* (pemotongan).** Pada tahap ini ovarium yang sudah mengeras dilepaskan dari kaset dan diletakkan pada mikrotom kemudian dipotong setebal 5 micron dengan pisau mikrotom. Kemudian dimasukkan ke dalam water bath bersuhu 40oC untuk merntangkan hasil potongan, hasil potongan kemudian diambil dengan object glass dengan posisi tegak lurus dan dikeringkan.
6. **Tahap *Staining* (Pewarnaan).** Merupakan tahapan pewarnaan objek menggunakan *Hematoxilin eosin* (pewarnaan HE) melalui tahapan sebagai berikut : Preparat di rendam dalam larutan *xylene* I selama 10 menit, lalu preparat diambil dari *xylene* I dan direndam dalam larutan *xylene* II selama 5 menit, kemudian preparat diambil dari *xylene* II dan direndam dalam etanol abhsolut selama 5 menit, lalu preparat diambil dari etanol absolut dan direndam dalam ethanol 96% selama 30 detik, preparat kemudian diambil dari ethanol 96% dan direndam dalam ethanol 50% selama 30 detik, lalu preprat diambil dari ethanol 50% dan direndam dalam runningtap water selama 5 menit, lalu prparat diambil dari runningtap water dan direndam dalam meyer hematoshirin selama 1-5 menit.

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

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji statistik Anova. Dan dilanjutkan Uji Komparasi Post Hoc untuk mengetahui perbedaannya.

C. HASIL PENELITIAN

Pengujian kenormalan data dilakukan dengan menggunakan uji *one sample Kolmogorov-smirnov* dengan taraf signifikansi 0,05%. *Rattus norvegicus* yang diberi dosis 18 mg, 36mg dan 72 mg.

Hasil uji Normalitas *Kolmogorov-smirnov* terhadap kadar insulin didapatkan sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil uji Normalitas *Kolmogorov-smirnov* terhadap kadar insulin

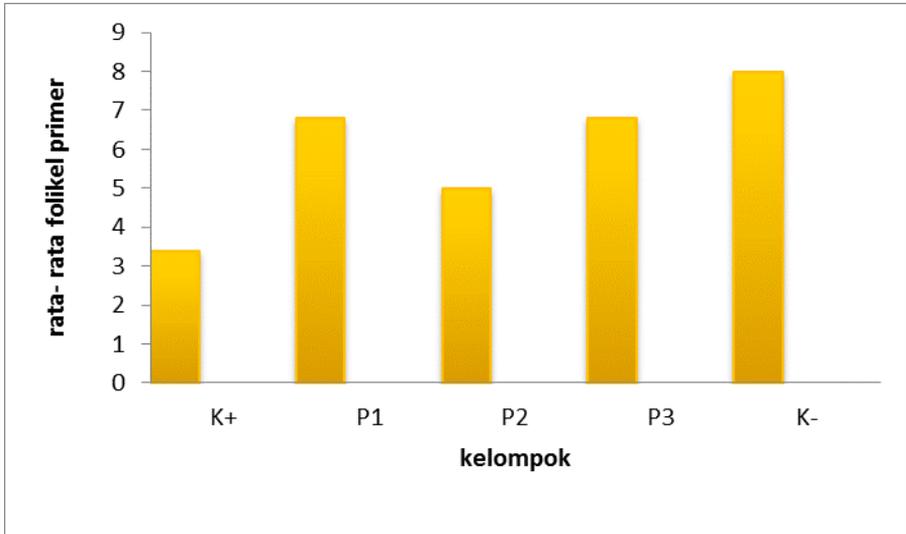
Uji Normalitas Kolmogorov	Folikel Primer	Folikel Sekunder	Folikel Tersier	Folikel de Graff
Mean	6.00	5.40	3.40	0.56
SD	2.61	2.72	1.93	1.15
Kolmogorov	0.70	0.59	0.70	2.02
<i>P</i>	0.71	0.87	0.69	0.00

Dari tabel diatas menunjukkan bahwa perkembangan primer, sekunder, tersier dan de Graff berdistribusi normal karena nilai $p > 0,05$. Karena hasil didapat berdistribusi normal $p > 0,05$ selanjutnya dengan Analisis Multivariat (Manova). Pada uji Manova didapatkan:

Tabel 2. Uji Manova terhadap perkembangan folikel tikus putih

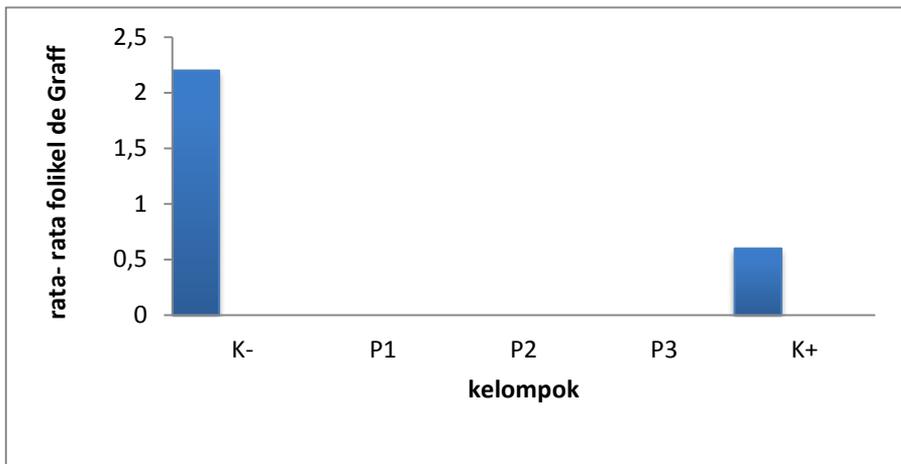
Variabel Dependent	F	Significant (<i>P</i>)
Folikel Primer	3.30	0.031
Folikel Sekunder	2.22	0.103
Folikel Tersier	1.11	0.378
Folikel de Graaf	6.48	0.002

Dari tabel diatas didapatkan bahwa folikel primer dan folikel de Graff didapatkan signifikansi level nya $< 0,05$ yaitu sebesar 0.031 dan 0.002. Jika dengan Manova terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Anova dan Least Significant Difference LSD) atau Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).



Gambar 1. Rata-rata uji anova pada folikel primer

Dari gambar 1 diatas didapatkan bahwa kelompok K- diperoleh hasil tertinggi dibandingkan antara kelompok perlakuan.



Gambar 2. Rata-rata uji anova pada folikel de Graff

Dari gambar 2 di atas didapatkan hasil tertinggi pada kelompok K- dibandingkan antara kelompok perlakuan.

Tabel 3. Uji Anova dan Least Significant Difference (LSD) terhadap perkembangan folikel tikus putih

Variabel	Dosis	X ±SD	F-hitung	Sig P
Dependent	perlakuan (J)			
Folikel Primer			3.300	0.031
K-	K-	8.00 ±2.91 ^a		
	K+	3.40 ±1.67 ^b		
	P1	6.80 ±2.16 ^a		
	P2	5.00 ±2.00 ^b		
	P3	6.80 ±2.16 ^a		
Folikel de Graff			6.486	0.002
K-	K-	2.20 ±1.64 ^a		
	K+	0.60 ±.89 ^b		
	P1	0.00 ±0.00 ^c		
	P2	0.00 ±0.00 ^c		
	P3	0.00 ±0.00 ^c		

Berdasarkan dari tabel di atas didapatkan uji Anova *oneway* folikel primer tikus setelah diintervensi dengan ekstrak sambiloto diperoleh nilai F-hitung sebesar 3.300 dengan signifikansi 0.031 ($p < 0,05$) dan folikel de Graff ovarium *Rattus norvegicus* setelah diintervensi dengan ekstrak sambiloto diperoleh nilai F-hitung sebesar 6.486 dengan signifikansi 0.002 ($p < 0,05$). Hal ini berarti kelompok perlakuan terdapat perbedaan bermakna pada jumlah folikel primer dan folikel de Graff, selanjutnya diuji dengan LSD untuk menguji perbedaan dua rata-rata perlakuan secara keseluruhan.

D. PEMBAHASAN

Pada penelitian ini difokuskan untuk pengaruh pemberian ekstrak ES terhadap pertumbuhan folikel. Pengamatan dilakukan pada ovarium tikus yang diwarnai dengan HE. Pada penelitian ini digunakan kelompok kontrol negatif tidak mendapat perlakuan, kelompok kontrol positif di buat model SOPK- resistensi insulin tanpa intervensi dan kelompok P1 model SOPK- resistensi insulin dengan dosis ekstrak sambiloto 18 mg/g bb/hr, kelompok P2 model SOPK- resistensi insulin dengan dosis ekstrak sambiloto 36 mg/g bb/hr, kelompok P3 model SOPK- resistensi insulin dengan dosis ES 72 mg/g bb/hr.

Efek perkembangan folikel dengan intervensi ES terhadap tikus putih (*Ratus norvegicus*) diantaranya dapat diketahui dengan pengamatan jumlah folikel primer, folikel sekunder, folikel tersier dan folikel de Graff.

Perkembangan folikel primer yang berasal dari satu epitel benih yang membelah diri. Sel yang nantinya menjadi ovum berada ditengah dan dikelilingi oleh sel kecil hasil pembelahan. Sel kecil ini merupakan lapisan sel yang tebal yang disebut sel granulosa. Setiap oosit dilapisi oleh selapis sel granulosa yang membentuk folikel primordial. Folikel primer kebanyakan berada langsung pada bagian basal ovarium yang tipis dan disebut tunika albugenia. Folikel primer terdiri selain letaknya yang berada dipermukaan juga oosit belum terbungkus membran viteline (Speroff *et al.*, 2005).

Dari hasil analisa manova pada folikel primer terdapat nilai signifikansi 0.031 ($p < 0,05$) artinya ada perubahan perkembangan folikel primer antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, yaitu kelompok P2 dan P1 < K-. Peningkatan jumlah folikel primer tersebut besar kemungkinan kandungan ekstrak sambiloto mampu meningkatkan jumlah folikel primer dengan mensekresi hormon gonadotropin dari hipofisis anterior akan mengeluarkan FSH dapat menjaga kualitas sel granulosa, yang mana sel granulosa ini sangat di butuhkan untuk menjaga sel telur yang membentuk sel jaringan pengikat di dalam korteks ovarium yang menjadi tempat berkembangnya folikel. Dan bahwa sel granulosa terdapat reseptor hormon FSH dan LH yang dibutuhkan untuk perkembangan folikel (Suheimi 2007).

Folikel sekunder didapatkan nilai signifikansi ($p > 0,05$) 0.103 dari uji manova, maksudnya tidak ada perubahan yang nyata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Di sebabkan mekanisme yang mengendalikan dan mengawali proses pertumbuhan folikel sekunder. Besar kemungkinan hal tersebut dikarenakan jumlah dalam dosis dari ekstrak sambiloto yang diberikan pada kelompok perlakuan kurang efektif dalam meningkatkan jumlah folikel sekunder. Seperti halnya pada folikel primer menuju folikel sekunder dibutuhkan hormon yang cukup untuk berkembang dan mencapai tahap folikel sekunder. Apabila dikaitkan dengan peran yang terkandung pada ekstrak sambiloto mempengaruhi perkembangan folikel sekunder untuk terbentuk, kemungkinan tidak memiliki hormon yang cukup untuk berkembang dan mencapai tahap folikel sekunder. Hal ini kemungkinan ekstrak sambiloto tidak memiliki reseptor FSH untuk meningkatkan pertumbuhan folikel sekunder.

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

(Kiptiyah,2002).

Beberapa peneliti yang lain dilakukan untuk menemukan peran FSH dalam perkembangan folikel. Salah satunya dengan mengamati pertumbuhan folikel pada tikus dengan defek pada gen reseptor FSH dan tikus yang dilakukan *hypopysectomy*, masih didapatkan pertumbuhan menjadi folikel sekunder sampai dengan folikel antral walaupun dalam jumlah yang sedikit dan laju yang lebih lambat(McGee, 2000).

Folikel sekunder merupakan perkembangan lebih lanjut dari folikel primer, ukurannya lebih besar karena sel granulosanya lebih banyak, ditandai dengan adanya zona pelucida dan pembungkus tipis pada oosit yang disebut membrane viteline (Partodiharjo,1992).

Berdasarkan hasil uji manova pada folikel tersier diperoleh nilai signifikansi 0.378 ($p>0,05$) maksudnya tidak ada pengaruh perubahan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Di sebabkan hormon berpengaruh dalam proses pertumbuhan folikel tersier. Dimana FSH cukup dapat mendorong folikel ke tahap yang selanjutnya. Pemberian ekstrak sambiloto kemungkinan menekan FSH sehingga tidak dapat memberikan perkembangan pada folikel tersier dalam jumlah yang banyak.

Dimungkinkan penurunan jumlah folikel tersier terjadi kerusakan pada sel-sel granulosa akibat dari ekstrak sambiloto. Folikel tersier ditandai dengan lebih banyak sel granulosa sehingga folikel tampak lebih besar, terletak jauh dari permukaan dan adanya antrum folikel yang berisi cairan disebut liquor folikuli (Toelihere,1981).

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

Kemungkinan besar berdasarkan pada data hasil penelitian, menunjukkan terjadinya penurunan jumlah dari folikel de Graff pada perkembangan selanjutnya, besar kemungkinan hal tersebut terjadi karena sudah melewati ovulasi yang mengakibatkan gambaran folikel de Graaf

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

E. PENUTUP

Berdasarkan dari hasil penelitian, maka disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan guna untuk pemberian dosis lebih tinggi atau mengetahui efek toksisitas ekstrak sambiloto terhadap organ lain seperti hepar dan pankreas. Selain itu juga perlu dilakukan pengujian hormonal dan penelitian lanjutan yang mengarah pada fertilisasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams J, Polson DW, Abdulwahid N, Morris DV, Franks S, Mason HD, Tucker, M, Price J and Jacobs HS. 1985. 'Multifollicular ovaries: clinical and endocrine features and response to pulsatile gonadotropin releasing hormone'. *Lancet*: 1375-1379
- Adashi EY. 1996. *Hyperinsulinemic Androgenism* : 'A Pathophysiologic Paradox'. In : Chang RJ. Polycystic Ovary Syndrome. Serono Symposia USA Inc. Massachusetts.: 245-64
- ADA. 1997. 'Consensus Development Conference on Insulin Resistance'. 5-6 November. *Diabetes Care*, Vol. 21: 2;310. Available online at: <http://www.diabetes.org/Diabetes Care/ 1998-02/pg 310>
- Anonim. 2006. Andrographis. <http://www.altacancer.com>. [21 Februari 2013]
- Azziz R. 2002 . Editorial ; 'Polycystic Ovary Syndrome , Insulin Resistance and Molecular Defect of Insulin Signaling'. *The Journal of Clinical Endocrinology and metabolism*. 87: 9 : 4085
- Balen AH and Dunger D. 1995. 'Pubertal maturation of the internal genitalia. Ultrasound Obstet'. *Gynecol*. 6: 164-165
- Bonora E, Targher MD, Alberiche M, Bonadonna RC, Saggiani F and Zenere MB. 2000. 'Homeostatis Model Assesment Closely Mirrors the Glucose Clamp Tekhnikue in the Assesment of Insulin Sensitivity'. *Diabetic Care*. 23: 57-63
- Campbell S, Goessens L, Goswamy R and Whitehead M. 1982 'Real-time ultrasonography for determination of ovarian morphology and volume'. *Lancet*, 1: 425-428
- Cheung AP, Lu JKH, Chang RJ. 1996. 'Hypothalamic-Pituitary Dynamics in Polycystic Ovary Syndrome'. *Serono Symposia USA Inc. Massachusetts*. 254 – 64

- Depkes RI. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Dewailly D, Robert Y, Helin I, Ardaens Y, Thomas-Desrousseau P, Lemaitre L and Fossati P. 1994. 'Ovarian stromal hypertrophy in hyperandrogenic women'. *Clin. Endocrinol.* 41: 557-562
- Dewailly D. 1997. Definition and significance of polycystic ovaries. In Rosenfield, R.L. (ed.). 'Hyperandrogenic States and Hirsutism. Balliere's Clin'. *Obstet. Gynaecol.* 11: 349-368
- Dunaif A. 1989. Segal KR, Futterweit W. 'Profound peripheral Insulin Resistenace, Independent of Obesity'. in *Polycystic Ovary syndrome. Diabetes: 57*
- Dunaif A. 1995. *Hyperandrogenic anovulation (PCOS)* ; 'a Unique Disorders of Insulin Action associated with an increased Risk of Insulin Action Associated with an Increased Risk of Non Insulin Dependent Diabetes Melitus'. *Am J Med* : 98
- Dunaif A. 1999. 'Insulin Action in The Polycystic Ovary Syndrome'. *Endocrinology and Metabolism Clinics*. Vol. 28: 2: 341-59
- Dunaif A. 1996. 'Finegood DT. B Cell Dysfunction Independent of Obesity and Glucose Intolerance in The Polycystic Ovary Syndrome'. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. Vol. 51: 3; 942-7
- Enhrmann DA, Barness RB and Rosenfiled RL. 'Polycystic ovary syndrome asa a form of functional ovarian hyperandrogenisme due to dysregulation of androgen secretion *Endocr Rev*'. 1995; 16 3; 322-53
- Goldstein SR. 1991. *Endovaginal Ultrasound*. 2nd Ed. New York: Wiley-Liss
- Gonzales C *et al.* 2000. *Role of 17 B estradiol and / or progesterone on insulin sensitivity in the rat: implication during pregnancy*. *Journal of Endokrinology* 166,283-291.
- Hughesdon PE. 1982. 'Morphology and morphogenesis of the Stein- Leventhal ovary and of so-called `hyperthecosis'. *Obstet. Gynecol. Surv.*, 37: 59-77
- Kumalasari LOR. 2006. 'Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya'. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. III, No. 1, April 2006, 01-07
- Lobo RA, Granger L, Goebelsmann U, 1981. 'Elevations in Unbound serum estradol as a possible mechanism for inappropriate gonadotropin secretion in women with PCO'. *Clin Endocrinol metab.* 52:1 ; 156-58

- Lobo RA. 1996. 'Unifying Concept for Polycystic Ovary Syndrome. In : Chang RJ, Plycistic Ovary Syndrome'. *Serono Symposia USA Inc. Massachusetts.*: 334 – 52
- Nestler JE. 2008.' Metformin for the treatment of the polycystic ovary syndrome'. *N Engl J Med*; 358: 47–54
- Naiyana T. 2002. Effects of *Andrographis paniculata* (Burm. F) Nees on performance, mortality, & coccidiosis in broiler chickens [disertasi]. Gottingen: Georg-August-University Gottingen, Germany
- Norman RJ, Davies MJ, Lord J, Moran LJ. 2002. 'The role of lifestyle modification in polycystic ovary syndrome'. *Trends Endocrinol Metab.* 13: 251–25
- Palmert MR., Gordon CM, Kartashov AI. 2002. 'Screening for Abnormal Glucose Tolerance in Adolescent with Polycystic Ovary Syndrome'. In: *Endocrine Care of Special Interest to the Practice of Endocrinology. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, Vol. 87:3; 1017-1023
- Rohimah. 1997. Identifikasi Flavonoid yang memiliki Antifungal dari Damar (*Hopea mangarawan*) dan *Shorea leptosula* [skripsi]. Bogor : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor
- Rujianto, Ahmad. 1997. *Pengendalian Glukosa pada Tingkat Seluler*. Majalah Kedokteran Unibraw Vol. XIII No. 3, 97-101
- Riesma Viofica. 2011.<http://riesmaviofica.blogspot.com/2011/10/polycystic-ovary-syndrome-pcos.html>
- Santoso B, Widjiati and Muttaqin DA. 2008. *Jurnal Pengaruh Lama Paparan Androgen terhadap Indeks Resistensi Insulin dan Kadar Asam Lemak Bebas pada Serum Tikus Model Sindroma Ovarium Polikistik*
- Shao J *et al*, 2004. Physical Activity / Exercise and Type 2 Diabetes. *Diabetic Care* 27 (10): 2518- 2539
- Samsulhadi. 2002. 'Obesitas dan Kesehatan Reproduksi Wanita' (Aplikasi Klinis berbasis moleculer) Dalam Tjokroprawiro A, Hendromartono,Sutjahyo Ari,Tandra A.*National Obesity Simposium I*,Hal 75-83
- Subramanian R, Asmawi MZ, Sadikun A. 2008. 'In vitro alpha-glucosidase and alphaamylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide'. *Acta, J. Biochem. Pol.*,55(2):391-398

- Sriningsih, Adji SW, Sumaryono W, Wibowo AE, Caidir, Firdayani, Kusumaningrum S, Kartakusuma P. 2002. 'Analisa Senyawa Golongan Flavonoid Herba Tempuyung' (*Sonchus arvensis* L), *JSTF*. Hal 21-25
- Speroff L, Glass kase NG. 1999. 'Anovulation and the Polycystic Ovary. In : Clinical Gynecological Endocrinology and Infertility'. 5th edition. *Williams and Wilkins Baltimore*. USA. pp 421 – 522
- Speroff L FM. 2005. 'Female infertility. In Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility'. 7th ed. *Philadelphialippincott William & Wilkin* pp 1014-67
- Solomon CG. 1999. 'The Epidemiology of Polycystic Ovary Syndrome: Prevalence and Associated Disease Risk'. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, Vol. 28:2; 247-538
- The Rotterdam ESHRE/ASRM – *Sponsored Consensus Workshop Group Revised 2003 Consensus on Diagnostic Criteria and Long – term Health Risks Related to Polycystic Ovary Syndrome*. *Fertility and Sterility*. 81:1; 19-25
- Toelihere, M.R. 1981. *Fisiologi Reproduksi*. Penerbit Angkasa Bandung.
- Utami P dan Tim Lentera. 2003. *Tanaman Obat untuk Mengatasi Diabetes Mellitus Cetakan Ketiga*. Yogyakarta: PT. Agromedia
- Watson H, Wills D, Mason H. 1997. 'The Effect Of Varian Steroid, Epidermal Growth Factor, Insulin –Like Growth factor Receptor. In Proceedings of Endokrin Society, 79th Annual Meeting. *Endokrin Society Press*. Minneapolis.
- Wibudi A. 2006. Mekanisme kerja Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) sebagai anti diabetes. [disertasi]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana IPB.
- Wuragil DK. 2006. *Potensi Ekstrak Sambiloto (Andrographis paniculata) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Keberadaan Tumor Nekrosis Faktor Alfa Pada Pankreas Tikus (Rattus norvegicus) Diabetes Hasil Paparan MLD-STZ*. Skripsi Jurusan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Malang: Universitas Brawijaya
- Yeh HC, Futterweit W and Thornton JC. 1987. 'Polycystic ovarian disease : US features in 104 patients'. *Radiology*, 163 : 111-622
- Yitnosumarto S. 1993. *Percobaan perancangan, Analisis dan Interpretasinya Gedia Pustaka Umum*. Jakarta.
- Yulinah E, Sukrasno, Fitri MA. 2011, 'Aktivitas Antidiabetika Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees (Acanthaceae)', *JMS ITB* Vol. 6