

PENGARUH *EXTRA VIRGIN OLIVE OIL* TERHADAP *FOLIKULOGENESIS* DAN KADAR *MALONDIALDEHYDE* OVARIUM TIKUS YANG DIPAPAR *RHODAMIN B*

Huda Rohmawati¹, Hidayat Sujuti², Pande Made D.³, Hendy Setyo Y.⁴

¹ Progam Magister Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

² Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

³ Departemen Obstetri dan Ginekologi, Rumah Sakit dr. Saiful Anwar Malang

⁴ Departemen Patologi Anatomi Rumah Sakit dr. Saiful Anwar Malang

Email: Huda.Rohma87@gmail.com

(Effect Of Extra Virgin Olive Oil On Folliculogenesis And Levels Of Malondialdehyde Ovarium Exposed Rats Rhodamin B)

Abstract: *Rhodamin B is a textile dye material misused as food coloring. Rhodamin B is toxic cause oxidative stress and increases MDA levels. Increased levels of MDA lead to impairment of folliculogenesis so that follicles do not develop and atresia. It contributes to infertile events. Exposure to rhodamine B affects folliculogenesis and ovarian MDA levels. The study aims to prove the effect of EVOO on Folliculogenesis and levels of Malondialdehyde ovarium female rats wistar strains exposed rhodamin B. The research method is True Experimental Post Test Only Control Group using 25 rats divided into 2 control groups and 3 groups of treatment with EVOO peroral dose 1.5 ml / KgBB, 3 ml / KgBB, 4.5 ml / KgBB and exposure to rhodamine B 18 mg / KgBB for 36 days. An ovary was then taken to calculate the number of follicles with HE staining and measurement of MDA levels with Spectrophotometry. Giving EVOO to the number of primary, secondary and MDA follicles showed a significant correlation ($p = 0,000 < \alpha$), with the primary follicle correlation coefficient of 0.735, the secondary follicle 0.699, indicating a positive and strong relationship. At the MDA level obtained -0.808 so there is a negative relationship and strong. this study showed that the administration of EVOO with the dose of 1.5 ml / KgBB, 3 ml / KgBB, 4.5 ml / KgBB had an effect on folliculogenesis and decreased ovarian MDA levels in female rats exposed to rhodamin B.*

Keywords: *Rhodamin B, Folliculogenesis, Malondialdehyde, EVOO*

Abstrak: Rhodamin B merupakan bahan pewarna tekstil disalahgunakan sebagai pewarna makanan. Rhodamin B bersifat toksik penyebab stres oksidatif, dan meningkatkan kadar MDA. Peningkatan kadar MDA menyebabkan gangguan folikulogenesis sehingga folikel tidak berkembang dan atresia. Hal tersebut berkontribusi pada kejadian infertil. Paparan rhodamin B berpengaruh pada folikulogenesis dan kadar MDA ovarium. Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan pengaruh EVOO pada *Folikulogenesis* dan kadar *Malondialdehyde* ovarium tikus betina galur wistar yang dipapar rhodamin B. Metode penelitian menggunakan *True Experimental Post Test Only Control Group* menggunakan 25 ekor tikus dibagi menjadi 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dengan pemberian EVOO peroral dosis 1,5 ml/KgBB, 3 ml/KgBB, 4,5 ml/KgBB serta dipapar rhodamin B 18 mg/KgBB selama 36 hari. Kemudian dilakukan pengambilan ovarium untuk

menghitung jumlah folikel dengan pewarnaan HE dan pengukuran kadar MDA dengan *Spectrofotometri*. Pemberian EVOO terhadap jumlah folikel primer, sekunder dan kadar MDA menunjukkan korelasi yang bermakna ($p=0,000<\alpha$), dengan koefisien korelasi folikel primer 0,735, folikel sekunder 0,699, menunjukkan ada hubungan yang positif dan kuat. Pada kadar MDA didapatkan -0,808 sehingga ada hubungan yang negatif dan kuat. Kesimpulan: Pemberian EVOO dengan dosis 1,5 ml/KgBB, 3 ml/KgBB, 4,5 ml/KgBB berpengaruh terhadap folikulogenesis dan penurunan kadar MDA ovarium pada tikus betina yang dipapar rhodamin B.

Kata Kunci: Rhodamin B, Folikulogenesis, *Malondialdehyde*, EVOO

PENDAHULUAN

Infertilitas masih menjadi masalah kesehatan dunia termasuk di Indonesia, berdampak pada kehidupan keluarga karena menyebabkan masalah medis dan psikologis (Hestiantoro *et al*, 2013). *World Health Organization* (WHO) secara global memperkirakan adanya kasus infertil $\pm 10\%$ pada pasangan, jika dari gambaran global populasi maka sekitar 50-80 juta pasangan (1 dari 7 pasangan) atau sekitar 2 juta pasangan infertil baru setiap tahun dan jumlah ini terus meningkat (Triwani, 2013). Prevalensi pasangan infertil di Indonesia tahun 2013 adalah 15-25% dari seluruh pasangan yang ada (Riskesdas, 2013).

Kejadian infertilitas 20% dari pihak pria disebabkan karena sperma yang abnormal, kelainan anatomi, gangguan endokrin dan disfungsi seksual. Sedangkan kejadian infertil dari pihak wanita menyumbang sebesar 65%, dan 15% kondisi lain-lain dan tidak diketahui. Wanita menjadi infertil disebabkan oleh banyak faktor diantaranya, usia, pekerjaan, tingkat stres, *body mass index* kaitannya dengan status gizi dan kelainan organ reproduksi seperti gangguan ovulasi, gangguan tuba dan pelvis, serta gangguan uterus (HIFERI, 2013). Sebagian besar

masalah infertilitas pada wanita disebabkan oleh gangguan ovulasi (50,3%) (Masoumi *et al*, 2015). Gangguan ovulasi terjadi karena adanya gangguan folikulogenesis sehingga folikel tidak berkembang dan mengalami atresia. Atresia folikel disebabkan adanya apoptosis dan stres oksidatif (Agarwal *et al*, 2012).

Stres oksidatif terjadi karena jumlah radikal bebas di dalam tubuh berlebihan, disebabkan karena berbagai zat kimia dalam makanan dan lingkungan (Muchtadi, 2013). Penyalahgunaan zat kimia pada makanan diantaranya adalah penggunaan rhodamin B (pewarna merah) (Alsuhenra dan Ridawati, 2013). Beberapa pengamatan yang telah dilakukan oleh Astuti, Meikawati dan Sumarginingsih (2010) di desa Bonang, Kecamatan Lasem, Kabupaten Rembang telah ditemukan penggunaan rhodamin B pada terasi sebesar 70% (Alsuhenra dan Ridawati, 2013).

Rhodamin B sering digunakan sebagai zat pewarna kertas, pewarna tekstil, dan sebagai reagen. Mengandung senyawa klorin (Cl-), pengalkilasi (CH₃-CH₃), *Poli Aromatic Hidrokarbon* (PAH) mengaktivasi enzim *sitokrom* P-450 serta struktur *quinon* yang sangat

redoks serta menyebabkan pembentukan *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) (Sulistina, 2014).

Peningkatan produksi ROS merupakan kondisi terjadinya stress oksidatif. Apabila ROS bereaksi dengan komponen asam lemak dari membran sel sehingga terjadi reaksi berantai yang dikenal dengan peroksidasi lipid maka akan menyebabkan kerusakan pada membran sel. Senyawa yang digunakan sebagai petunjuk aktivitas radikal bebas didalam sel sehingga terjadi stress oksidatif disebut *Malondialdehyde* (Suciati, 2014).

MDA menyebabkan penurunan jumlah semua jenis folikel ovarium sehingga menyebabkan terjadinya infertilitas. Sitotoksitas dan kematian sel yang diakibatkan oleh ROS dapat diminimalisasi oleh antioksidan dan mekanisme perbaikan di dalam sel (Suciati, 2014).

Antioksidan adalah substansi yang dapat memperlambat atau mencegah kerusakan akibat oksidasi dari molekul lain seperti radikal bebas (Devasagayam, 2004). Antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen yaitu enzim-enzim yang bersifat antioksidan seperti *Superoksida Dismutase* (SOD), *Katalase* (Cat), dan *Glutathione peroksidase* (Gpx). Serta antioksidan eksogen yang berasal dari luar tubuh antara lain vitamin A, vitamin E, isoflavon, tokoferol, polifenol. Ada beberapa tumbuhan yang mengandung antioksidan seperti buah manggis, jambu biji, daun katuk, buah naga, kulit nanas, kulit batang ketapang kencana dan zaitun. Salah satu tanaman yang memiliki banyak kandungan polifenol adalah buah zaitun (Bubonja, 2011).

Buah zaitun dalam bentuk *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) merupakan minyak yang berasal dari buah zaitun yang pertama kali diproses sehingga kandungan zat gizi yang hilang sangat kecil dan mengandung sejumlah polifenol dengan kadar yang tinggi (Vossen, 2007).

Tujuan dari penelitian ini adalah membuktikan pengaruh EVOO pada *Folikulogenesis* dan kadar MDA ovarium tikus betina galur wistar yang dipapar rhodamin B.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah *True Experimental* dengan *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Patologi, Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Maret sampai Mei 2018 dan sudah disetujui oleh Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih galur wistar. Kriteria inklusi: tikus betina galur wistar, sehat, usia 2-3 bulan. Kriteria eksklusi: tikus dalam kondisi sakit atau mati, hamil saat perlakuan. Sebelum tikus diberi perlakuan terlebih dahulu dilakukan aklimatisasi selama 15 hari dan tikus diberi makan dan minum secara *ad libitum*. Tikus dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol, setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Pembagian kelompok dilakukan secara acak/ *Simple Random Sampling*. Pembagian kelompok sampel tersebut adalah sebagai berikut:

- 1) Kontrol -: tidak dipapar rhodamin B, tidak diberi EVOO.

- 2) Kontrol +: dipapar rhodamin B dosis 18 mg/ 200 gr BB, tidak diberi EVOO.
- 3) Perlakuan 1: dipapar rhodamin B dosis 18 mg/ 200 gr BB, diberi EVOO sebanyak 1,5 ml/Kg BB.
- 4) Perlakuan 2: dipapar rhodamin B dosis 18 mg/ 200 gr BB, diberi EVOO sebanyak 3 ml/Kg BB.
- 5) Perlakuan 3: dipapar rhodamin B dosis 18 mg/ 200 gr BB, diberi EVOO sebanyak 4,5 ml/Kg BB.

Perlakuan dilakukan selama 36 hari. Tikus diterminasi dengan diberi injeksi ketamin 1% dosis 0,2 ml secara intraperitoneal selanjutnya dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ ovarium.

Pemeriksaan Folikulogenesis diamati dengan menghitung jumlah Folikel Ovarium.

Pembuatan preparat histologi ovarium dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya. Preparat dilakukan pewarnaan dengan *Hematoxylin Eosin* (HE) kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan kamera dotslide merek Olympus XC10 dengan pembesaran 400x.

Pemeriksaan Kadar MDA

Pemeriksaan kadar MDA dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pemeriksaan menggunakan Uji *Thiobarbituric Acid* (TBA) dilanjutkan pengukuran secara spektrofotometri untuk membaca absorbansinya pada panjang gelombang 532 nm.

Analisis Statistik

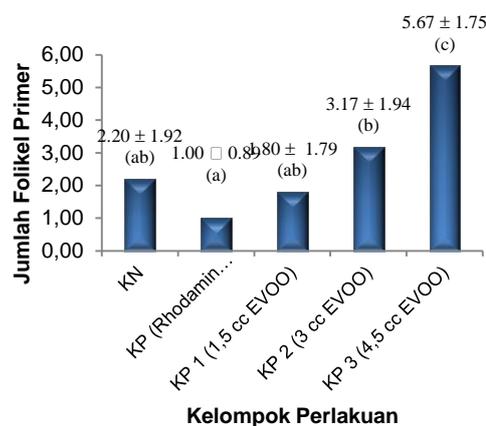
Data dianalisis secara statistik menggunakan SPSS Statistic 23. Data diuji menggunakan One Way Anova dilanjutkan uji LSD (*Least*

Significant Difference), uji korelasi dengan *Spearman Rho* dan uji regresi.

HASIL PENELITIAN

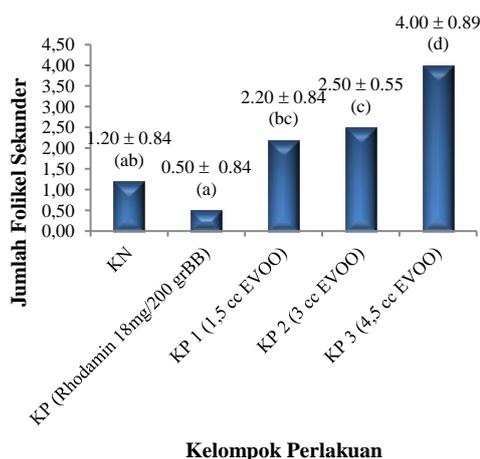
Hasil Uji One Way Anova dilanjutkan uji LSD (*Least Significant Difference*)

Jumlah Folikel Primer Ovarium



Gambar 1. Histogram Rerata Jumlah Folikel Primer

Jumlah Folikel Sekunder Ovarium

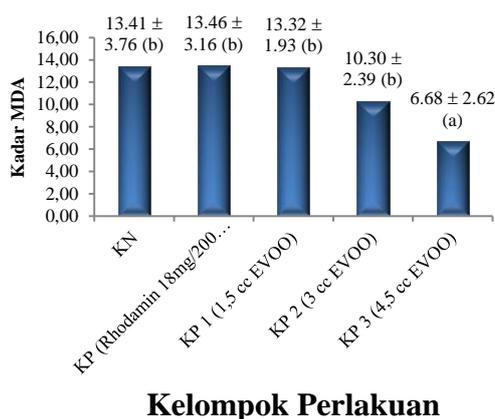


Gambar 2. Histogram Rerata Jumlah Folikel Sekunder Ovarium

Berdasarkan gambar 1 dan gambar 2, di atas terdapat perbandingan rerata jumlah folikel

primer dan folikel sekunder pada kelima kelompok sampel pengamatan dengan menggunakan uji One Way Anova diperoleh perbedaan yang bermakna. Hal ini ditunjukkan dengan nilai $p\text{-value} < \alpha = (0,05)$. Selanjutnya pada uji LSD diperoleh bahwa kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok tikus yang dipapar rhodamin B dengan dosis 18 mg/ 200 gr, diberikan EVOO sebanyak 4,5 ml/KgBB menghasilkan jumlah folikel primer yang paling tinggi dan berbeda signifikan dengan semua kelompok perlakuan.

Kadar MDA Ovarium



Gambar 3. Histogram Rerata Kadar MDA

Berdasarkan gambar 3 terdapat perbandingan rerata kadar MDA pada kelima kelompok sampel pengamatan dengan menggunakan uji One Way Anova diperoleh perbedaan yang bermakna. Hal ini ditunjukkan dengan nilai $p\text{-value} < \alpha = (0,05)$. Selanjutnya pada uji LSD diperoleh bahwa kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok tikus yang dipapar rhodamin B dengan dosis 18 mg/ 200 gr, diberikan EVOO sebanyak 4,5 ml/KgBB menunjukkan kadar MDA yang

paling rendah dan berbeda signifikan dengan semua kelompok perlakuan.

Hasil Uji Korelasi

Tabel 1 Hasil Uji Korelasi Pengaruh EVOO terhadap jumlah folikel dan kadar MDA

variabel	Koefisien korelasi	Arti	p-value
Jumlah folikel primer	0,735	kuat	0,001
Jumlah folikel sekunder	0,699	kuat	0,002
Kadar MDA	-0.808	Sangat kuat	0,000

Sumber: SPSS Statistic 23

Berdasarkan tabel 2, dapat dinyatakan bahwa ada hubungan yang signifikan antara pengaruh EVOO terhadap jumlah folikel dan kadar MDA, hal itu ditunjukkan dengan adanya tingkat keeratan hubungan atau nilai koefisien korelasi yang kuat yaitu $r = 0,735$, $r = 0,699$, $r = -0.808$, serta memiliki nilai $p\text{-value} < \alpha$. Nilai positif pada koefisien korelasi menunjukkan bahwa ada hubungan yang positif (searah) dan kuat. Hal ini berarti semakin tinggi dosis EVOO maka jumlah folikel sekunder juga semakin banyak, begitu juga sebaliknya semakin rendah dosis EVOO maka jumlah folikel sekunder akan semakin sedikit. Sedangkan nilai negatif pada koefisien korelasi menunjukkan bahwa ada hubungan yang negatif (berlawanan arah) dan sangat kuat. Hal ini berarti semakin tinggi dosis EVOO maka kadar MDA juga semakin turun, begitu juga sebaliknya semakin rendah dosis EVOO maka kadar MDA akan semakin tinggi.

Hasil Uji Regresi Linier Sederhana

Tabel 2 Hasil Uji Regresi Pengaruh EVOO terhadap jumlah folikel dan kadar MDA

variabel	T	p-value	Ket.
Jumlah folikel primer	3,601	0,003	Signifikan
Jumlah folikel sekunder	3,783	0,002	Signifikan
Kadar MDA	-4.823	0,000	Signifikan

Sumber: SPSS Statistic 23

Pada tabel 2, menunjukkan bahwa kedua variabel memiliki nilai p-value $< \alpha$, sehingga dapat dinyatakan bahwa ada pengaruh yang signifikan antara dosis EVOO terhadap jumlah folikel dan kadar MDA.

PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian ini didapatkan bahwa tikus putih betina yang dipapar rhodamin B dan tidak diberikan EVOO ternyata menyebabkan penurunan jumlah folikel (folikel primer dan folikel sekunder).

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Suciati (2014), rhodamin B dapat menyebabkan stres oksidatif yang mampu meningkatkan kadar MDA. MDA menyebabkan penurunan jumlah semua jenis folikel ovarium sehingga menyebabkan terjadinya infertilitas.

Menurut Agarwal *et al.*, (2012), menyatakan bahwa stres oksidatif dapat menyebabkan terjadinya apoptosis sel dan atresia folikel, dapat mengganggu proses folikulogenesis sehingga folikel tidak berkembang yang mengakibatkan terjadinya gangguan ovulasi pada wanita. Infertilitas timbul akibat

keadaan stres oksidatif yang disebabkan oleh rhodamin B, sehingga terjadi pembentukan radikal bebas.

Pada kelompok perlakuan yang dipapar rhodamin B dan diberi EVOO berbagai dosis (KP1, KP2, KP3) dapat meningkatkan jumlah folikel primer dan sekunder ovarium. Berdasarkan uji *Annova one way* dapat dinyatakan bahwa ada perbedaan pengaruh pemberian EVOO terhadap jumlah folikel primer dan folikel sekunder yang berbeda signifikan. Pengujian perbedaan pengaruh pemberian EVOO terhadap jumlah folikel primer menghasilkan statistik uji F sebesar 6.674 dengan probabilitas sebesar 0.001. Sedangkan pengujian perbedaan pengaruh pemberian EVOO terhadap jumlah folikel sekunder menghasilkan statistik uji F sebesar 16.572 dengan probabilitas sebesar 0.000. Berdasarkan hasil dari uji BNT didapatkan bahwa kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok tikus yang dipapar rhodamin B dengan dosis 18 mg/ 200 gr, diberikan EVOO sebanyak 4,5 ml/KgBB menghasilkan jumlah folikel primer dan sekunder yang paling tinggi dan berbeda signifikan dengan semua kelompok perlakuan.

Pertumbuhan dan perkembangan folikel ovarium meliputi pertumbuhan oosit, proliferasi sel granulosa, pembentukan antrum, aktivasi reseptor FSH dan LH, pembentukan hormon estrogen hingga oosit diovasikan. Folikulogenesis dimulai saat folikel primordial menuju arah medula yang lebih lunak. Hal itu memicu selesainya istirahat meiosis oosit dalam folikel primordial dan berkembang menjadi

folikel primer kemudian folikel sekunder.

Stres oksidatif yang terjadi di ovarium dapat menyebabkan terjadinya gangguan folikulogenesis sehingga folikel tidak berkembang, apoptosis dan mengalami atresia (Agarwal *et al.*, 2012).

Berdasarkan data kadar MDA ovarium menggunakan uji *Annova one way*, diperoleh hasil bahwa ada perbedaan pengaruh kadar MDA ovarium kelompok sampel pengamatan, hal ini ditunjukkan dengan p-value 0,05 dengan nilai probabilitas 0,001. Selanjutnya pada uji perbandingan berganda dengan uji Beda Nyata Terkecil (LSD), menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif (KP) yaitu kelompok tikus yang dipapar rhodamin B dengan dosis 18 mg/ 200 gr, tidak diberikan *EVOO* menghasilkan kadar MDA yang paling tinggi dan berbeda signifikan kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok tikus yang dipapar rhodamin B dengan dosis 18 mg/ 200 gr, diberikan *EVOO* sebanyak 4,5 ml/KgBB, namun tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan 1 yaitu kelompok tikus yang dipapar rhodamin B dengan dosis 18 mg/ 200 gr, diberikan *EVOO* sebanyak 1,5 ml/KgBB dan kelompok perlakuan 2 yaitu kelompok tikus yang dipapar rhodamin B dengan dosis 18 mg/ 200 gr, diberikan *EVOO* sebanyak 3 ml/KgBB. Sedangkan kelompok perlakuan 3 yaitu kelompok tikus yang dipapar rhodamin B dengan dosis 18 mg/ 200 gr, diberikan *EVOO* sebanyak 4,5 ml/KgBB menghasilkan kadar MDA yang paling rendah dan berbeda signifikan dengan semua kelompok perlakuan. Sehingga hasil tersebut menunjukkan

bahwa *EVOO* mampu menurunkan kadar MDA ovarium tikus yang dipapar rhodamin B. Dosis optimum yang mampu memberikan perbedaan yang signifikan terdapat pada kelompok perlakuan 3 dengan *EVOO* sebanyak 4,5 ml/KgBB.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Meilina (2017), bahwa pemberian *EVOO* dengan dosis oral 1cc (1g/KgBB) dapat menurunkan kadar MDA pada tikus Wistar jantan yang dipapar asap rokok secara signifikan. *EVOO* menjadi salah satu antioksidan eksogen yang memiliki efek *chemopreventive* pada beberapa jenis kanker, serta dapat menghambat proses karsinogenesis dengan beberapa mekanisme seperti penghambatan pada proses sintesis DNA, mengurangi produksi ROS, meregulasi siklus sel, mengatur mekanisme proliferasi serta survival sel.

Produksi ROS dapat terjadi pada proses metabolisme di mitokondria. Produksi ROS yang berlebihan dapat mengganggu fungsi dari mitokondria yang berada di oosit dan embrio. ROS dalam sistem reproduksi dengan jumlah yang normal memiliki peran untuk mengatur proses fisiologis pematangan oosit, tetapi dalam jumlah yang berlebihan dapat meningkatkan stres oksidatif yang dapat merusak molekul dan struktur sel oosit dan granulosa dalam folikel dan juga dapat menyebabkan kerusakan DNA (Tamura *et al.*, 2012).

Reaksi peroksidasi lipid yang disebabkan meningkatnya ROS karena adanya paparan rhodamin B dapat dihambat oleh antioksidan baik didalam tubuh itu sendiri maupun dari luar seperti adanya penambahan

antioksidan salah satunya phenol pada EVOO. Gugus phenol yang terdapat pada EVOO terdiri dari struktur cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Semakin banyak gugus hidroksil yang terkandung dalam gugus phenol maka menunjukkan kemampuan antioksidan yang lebih baik. Pada jenis EVOO mengandung paling sedikit dua gugus hidroksil. Konsentrasi phenol pada EVOO bervariasi dari 50 sampai 800 mg/Kg (Vissers *et al.*, 2004).

KESIMPULAN

Extra Virgin Olive Oil dapat meningkatkan jumlah folikel primer, sekunder dan dapat menurunkan kadar MDA ovarium pada tikus betina galur wistar yang dipapar Rhodamin B. *Extra Virgin Olive Oil* dengan dosis 4,5 ml/KgBB terbukti dapat meningkatkan jumlah folikel primer dan sekunder serta dapat menurunkan kadar MDA ovarium tikus betina galur wistar yang dipapar Rhodamin B.

Sitotoksitas dan kematian sel yang diakibatkan oleh stres oksidatif dapat diminimalisasi oleh antioksidan dan mekanisme perbaikan di dalam sel. Antioksidan adalah substansi atau molekul yang dapat memperlambat atau mencegah kerusakan akibat oksidasi dari molekul lain seperti radikal bebas (Devasagayam, 2004).

Antioksidan endogen berupa enzim-enzim yang bersifat antioksidan, seperti *Superoksida Dismutase* (SOD), katalase (Cat), dan glutathione peroksidase (Gpx). Antioksidan eksogen, yaitu yang didapat dari luar tubuh/makanan. Berbagai bahan alam banyak mengandung antioksidan dengan

berbagai bahan aktifnya, antara lain vitamin C, E, pro vitamin A, organosulfur, *α-tocopherol*, flavonoid, *thymoquinone*, statin, niasin, *phycocyanin*, *Saponin*, *Polifenol* dan lain-lain (Werdhasari, 2014).

Zat-zat antioksidan yang terkandung dalam EVOO meliputi senyawa fenolik, tokoferol, squalene, pigment dan betakaroten. EVOO diketahui memiliki kandungan polifenol yang tinggi, polifenol dikenal sebagai anti inflamasi, antioksidan dan antikoagulan. Cara kerja antioksidan ini membantu melindungi sel dari kerusakan oksidatif yang diakibatkan oleh radikal bebas. Termasuk dalam golongan antioksidan non enzimatis yang bersifat preventif dengan merusak pembentukan oksigen yang reaktif (Winarsi, 2007).

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal A, Mellado A.A, Premkumar B. J, Shaman A., Gupta S. 2012. The Effects Of Oxidative Stress On Female Reproduction: a review, *Reproductive Biology and Endocrinology*.
- Alsuheindra dan Ridawati. 2013. Bahan Toksik dalam Makanan. Bandung: PT. Remaja Rosda Karya
- Bubonja-Sonje M, Giacometti J, Abram M. 2011. Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Food Chemistry*. 127:1821-27.
- Devasagayam, T. P. A. 2004. Free radicals and antioxidants in human health: Current Status and Future Prospects. *Journal of the Association of Physicians of India*. Volume. 52:794-804.

- Hestiantoro A, Soebijanto S. 2013. *Konsensus Penanganan Infertilitas. Himpunan Endokrinologi Reproduksi dan Fertilitas Indonesia (HIFERI), Perhimpunan Fertilisasi In Vitro Indonesia.*
- HIFERI. 2013. *Konsensus Penanganan Infertilitas. Himpunan Endokrinologi Reproduksi dan Fertilitas Indonesia. (PERFITRI), Ikatan Ahli Urologi Indonesia (IAUI), Dan Perkumpulan Obstetri Dan Ginekologi Indonesia (POGI).*
- Masoumi S. Z., Parsa P., Darvish N. B. S., Mokhtari S., Yavangi M., Roshanaei G. T. 2015. An epidemiologic survey on the causes of infertility in patients referred to infertility center in Fatemeh
- Meilina. 2017. Extra Virgin Olive Oil Menurunkan Kadar MDA (Malondialdehyde) pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar yang Dipapar Asap Rokok. *DiscoverSys/ Intisari Sains Medis*, Volume 8, Number 2: 97-101
- Muchtadi, D. 2013. *Antioksidan dan Kiat Sehat Di Usia Reproduksi.* Bandung: Alfabeta.
- Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). 2013. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI.* <http://www.depkes.go.id/resources/download/general/hasil/riskesdas2013.pdf>. Diakses pada tanggal 10 Desember 2017
- Suciati, S. 2014. *Pengaruh Paparan Rhodamin B Terhadap Jumlah Folikel Ovarium Dan Kadar Malondialdehyde (MDA) Ovarium Tikus Rattus Norvegicus Galur Wistar.* Tesis. Pascasarjana Universitas Brawijaya
- Sulistina, D. R., Ratnawati, R., Wiyasa, I. W. A. 2014. Rhodamine B increases hypothalamic cell apoptosis and disrupts hormonal balance in rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction.* 180-183
- Tamura, H., Takasaki, A., Taketani, T., Tanabe, M., Kizufa, F., Lee, L., Tamura, I., Maekawa, R., Aasada, H., Yamagata, Y., and Sugino, N., 2012. The Role Of Melatonin And Antioxidant In The Folikel. *Journal Of Ovarian Researc.* 5: 5.
- Triwani. 2013. *Faktor Genetik Sebagai Salah Satu Penyebab Infertilitas Pria.* Palembang: Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.
- Vissers MN, Zock PL, Roodenburg AJC, Leenen R, Katan MB. Olive oil phenols are absorbed in humans. *Journal Nutrition.* 2002; 132: 409-417. PMID:11880564
- Vossen P. 2007. Olive oil: history, production, and characteristics of the world's classic oils. *Hortscience.*;42(5):1093-1100.
- Werdhasari, Asri. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia* . Vol.3.2.2014: 59-68
- Winarsi, H. M. S., 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas.* Cetakan 5. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.p.11-37, 49-58, 77-8.