

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Menopause

2.1.1 Menopause pada Manusia

Menopause merupakan suatu keadaan yang disebabkan oleh kegagalan fungsi ovarium yang terjadi pada wanita usia sekitar 52 tahun ditandai dengan berhentinya menstruasi yang terjadi selama 12 bulan. Menopause adalah proses alami dan tidak dapat dihindarkan yang terjadi secara spontan pada usia 40-58 tahun pada sebagian besar wanita sedangkan menopause tidak alami yaitu suatu keadaan yang ditandai dengan berhentinya menstruasi setelah tindakan bilateral ooforektomi, kemoterapi atau radiasi. Efek dari tindakan tersebut dapat menyebabkan seorang wanita mengalami keadaan menopause prekoks yaitu menopause yang terjadi pada wanita berusia kurang dari 40 tahun (Shifren dan Margery, 2014).

Kejadian menopause prekoks juga banyak terjadi pada kasus kanker ginekologi yang menjalani kemoterapi dan radiasi (Suwiyoga, 2013). Aksis hipotalamus-hipofisis-ovarium dimana produksi hormon steroid oleh ovarium akan memberikan umpan balik negatif pada hipotalamus-hipofisis terhadap sekresi hormon FSH dan LH. Perubahan yang signifikan pada fungsi endokrin siklus menstruasi terjadi pada saat menopause. Siklus gonadotropik dan gonad steroid akan digantikan dengan siklus monofasik dari peningkatan sekresi

commit to user

gonadotropin serta penurunan sekresi dari hormon estrogen, progesteron dan inhibin sebagai akibat tidak adanya folikel yang dimatangkan pada saat menopause. Proses hilangnya sekresi estrogen dan progesteron ini terutama berdampak secara sistemik pada saat menopause (Burger, 2006).

FSH merupakan salah satu hormon reproduksi utama pada seorang wanita. Kadar FSH dapat dipakai sebagai salah satu prediktor cadangan ovarium untuk mengetahui tingkat fertilitas seorang wanita. FSH merupakan hormon yang pertama kali terjadi perubahan pada masa menopause (Hall, 2015). Kehilangan hormon ovarium pada menopause menyebabkan gejala seperti gangguan vasomotor, gangguan sistem genitourinaria, gangguan tidur, gangguan psikologis, gangguan seksual, infertilitas dan bila berlangsung kronis dapat menyebabkan terjadinya osteoporosis dan penyakit jantung koroner. Timbulnya gejala menopause tersebut menyebabkan gangguan kualitas hidup pada seorang wanita dalam menjalankan kehidupannya sehari-hari dan sepertiga kehidupan wanita dilalui pada masa menopause (Irene dan Freeman, 2009). Jumlah wanita menopause di seluruh dunia diperkirakan mencapai 1,1 miliar orang pada tahun 2025 (Shifren dan Margery, 2014).

Berbagai upaya sudah dilakukan saat ini untuk menangani masalah menopause dalam rangka mengembalikan fungsi hormonal wanita seperti pemberian terapi hormonal maupun non hormonal. Terapi hormonal dengan pemberian HRT masih merupakan

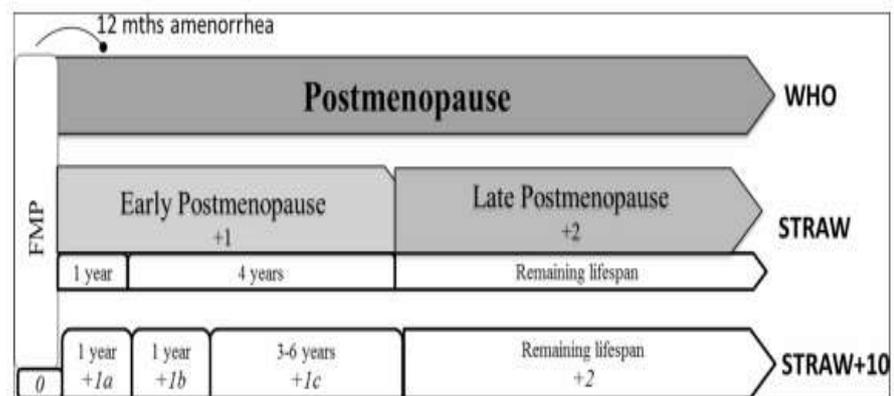
rekomendasi utama untuk mengatasi gejala menopause walaupun demikian pemberian HRT pada wanita menopause bersifat individual dan harus diberikan secara hati-hati mengingat efek samping yang mungkin terjadi (Shifren dan Margery, 2014). Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi yang semakin maju membawa perubahan terapi untuk mengatasi gejala menopause bahkan menunda menopause itu sendiri ke arah THT yang meliputi kriopreservasi dan autotransplantasi ovarium yang dapat mengembalikan fungsi hormonal wanita. Metode THT ini menghasilkan hormon yang bersifat lebih alami sehingga dapat menghasilkan kehamilan alami pada seorang wanita. Metode ini dapat menjadi pilihan pada kasus menopause yang terjadi pada usia muda yang masih menginginkan fungsi fertilitas, namun demikian metode ini masih terkendala biaya yang mahal dan harus dilakukan oleh seorang ahli profesional (Andersen dan Kristensen, 2015).

Wanita menopause muda yang masih menginginkan fungsi reproduksinya maka dapat dilakukan donor oosit *in vitro fertilization* (IVF) maupun donor ovarium (Suwiyoga, 2013) dan di Indonesia saat ini donor oosit maupun donor ovarium belum dapat diterima secara etika dan hukum sehingga tidak dapat dilakukan, selain itu juga pada beberapa kasus terjadi reaksi penolakan dari tubuh resepien terhadap donor oosit atau ovarium yang diberikan (Sugiarto, 2011).

The Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW) mengklasifikasikan periode menstruasi wanita menjadi 5 tahapan, meliputi (Harlow *et al.*, 2012) :

- Tiga Tahapan awal, meliputi tahap awal (-5), puncak (-4), akhir (-3) dari fase reproduktif, yaitu mendeskripsikan periode waktu sebelum memasuki fase perimenopause. Stadium -3 ditandai dengan siklus menstruasi yang masih reguler tetapi didapatkan peningkatan konsentrasi FSH pada fase folikular
- Stadium -2, yaitu fase awal transisi menopause ditandai dengan variabilitas dari durasi siklus menstruasi
- Stadium -1, yaitu fase akhir transisi menopause ditandai dengan hilangnya dua atau lebih fase menstruasi dengan disertai dengan amenore yang mencapai 60 hari atau lebih
- Stadium +1, merupakan periode 5 tahun pertama setelah menstruasi terakhir
- Fase +2, merupakan fase akhir menopause

Tahap *early* menopause adalah < 5 tahun sejak periode menstruasi terakhir, seangkan *late* menopause adalah > 5 tahun sejak periode menstruasi terakhir (Campbell *et al.*, 2015)

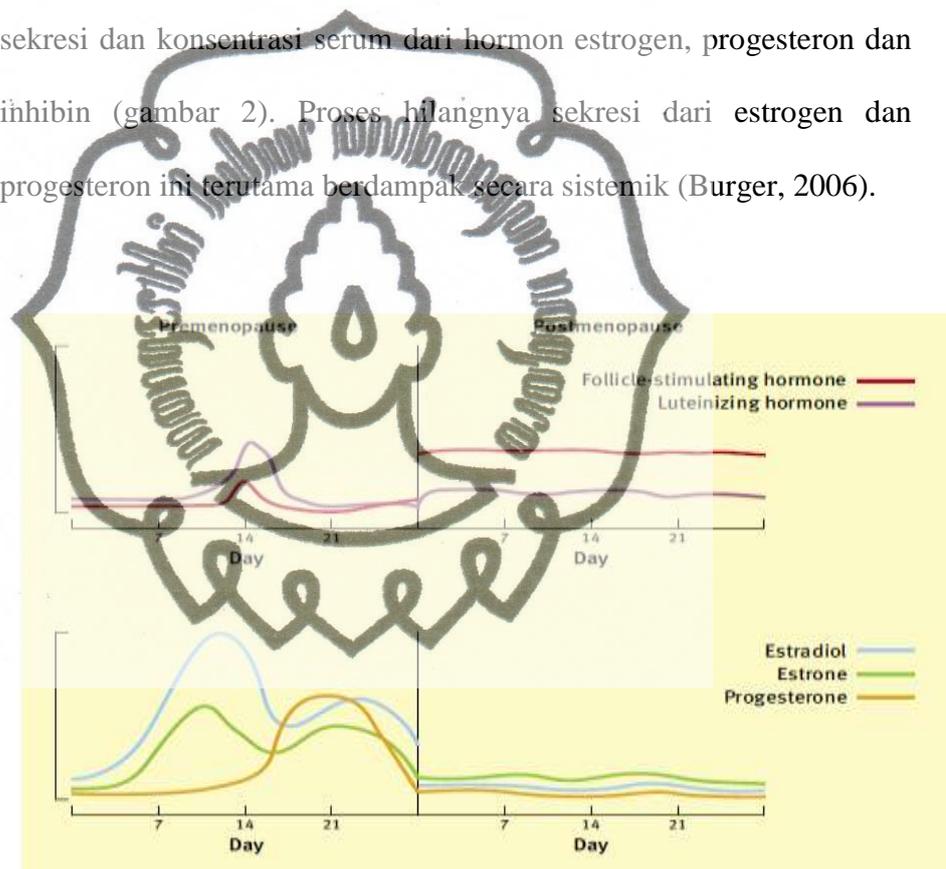


Gambar 1. Tahapan Menopause
(Campbell *et al.*, 2015)

Proses penuaan juga memberikan beberapa perubahan yang signifikan pada tingkat fungsional dari sistem endokrinologi pada siklus menstruasi. Sintesis dan sekresi FSH akan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya usia terutama pada kelompok wanita dengan usia 40-45 tahun. Fase tersebut terjadi sedikit peningkatan konsentrasi dari estradiol yang bersirkulasi juga pada hormon inhibin A dalam sirkulasi. Sebaliknya, akan terjadi penurunan konsentrasi dari hormon inhibin B pada fase tersebut. Inhibin A merupakan produk dari dari folikel dominan. Konsentrasinya terutama akan meningkat pada pertengahan siklus menstruasi dan fase luteal ketika hormon tersebut diproduksi oleh korpus luteum. Inhibin B merupakan produk dari sel granulosa. Konsentrasinya terutama meningkat saat awal fase folikuler, setelah pertengahan siklus menstruasi dan menurun pada fase luteal (Irene dan Freeman, 2009).

Produksi hormon steroid oleh ovarium akan memberikan umpan balik negatif pada hipotalamus-hipofisis untuk menghentikan sekresi hormon *Gonadotrophine Releasing Hormone* (GnRH) dan hormon

FSH serta LH. Hormon inhibin B bekerja secara spesifik untuk menghambat sekresi dari FSH. Fase menopause akan terjadi perubahan yang signifikan pada fungsi endokrin siklus menstruasi akibat tidak adanya folikel yang dimatangkan pada saat menopause, siklus gonadotropik dan gonad steroid akan digantikan dengan siklus monofasik dari peningkatan sekresi gonadotropin serta penurunan sekresi dan konsentrasi serum dari hormon estrogen, progesteron dan inhibin (gambar 2). Proses hilangnya sekresi dari estrogen dan progesteron ini terutama berdampak secara sistemik (Burger, 2006).

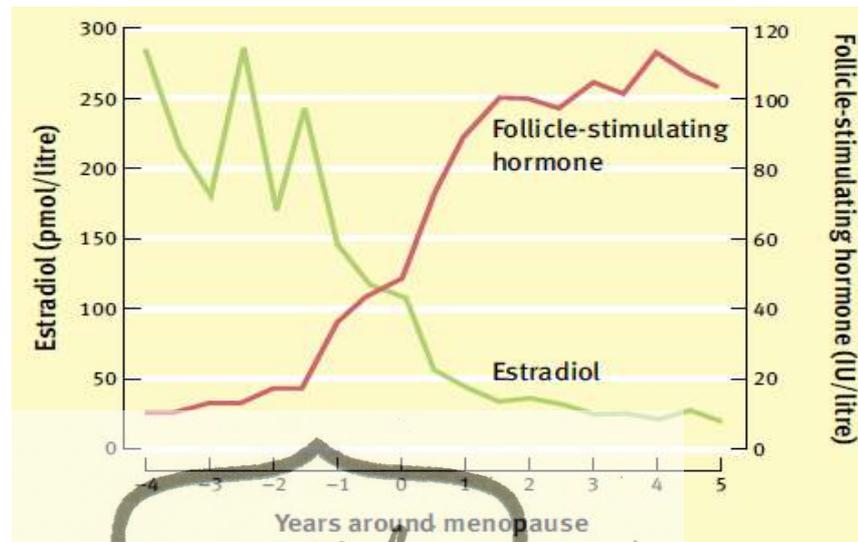


Gambar 2. Fisiologi fungsi endokrin pada premenopause dan postmenopause (Burger, 2006)

Fase transisi menopause yang ditandai dengan irregularitas dari menstruasi (STRAW fase -2) akan terjadi penurunan sekresi dari inhibin B yang diikuti dengan peningkatan konsentrasi hormon FSH (Campbell *et al.*, 2015). Proses ini terutama akan diikuti penurunan

sekresi estradiol secara berkala pada saat selang interval antara siklus menstruasi telah mencapai > 3 bulan (STRAW fase -1) (Burger, 2006). Penelitian menunjukkan bahwa pada saat siklus menstruasi terakhir konsentrasi FSH akan meningkat hingga 50% dari konsentrasi FSH pada fase post menopause atau mencapai 10-15 kali lipat lebih besar dari konsentrasi FSH pada wanita usia produktif. Konsentrasi estradiol pada siklus menstruasi terakhir juga menurun hingga setengah dari konsentrasi saat usia reproduktif. Konsentrasi estradiol tersebut akan terus menurun secara progresif hingga mencapai titik nadir dalam durasi 2-3 tahun setelah siklus menstruasi terakhir. Kondisi akhir konsentrasi estradiol dalam tubuh turun hingga 90% atau lebih (gambar 3) (Campbell *et al.*, 2015).

Proses transisi menopause menyebabkan terjadinya instabilitas dari berbagai hormon siklus menstruasi. Pemeriksaan *sampling* berulang menunjukkan pola yang bervariasi pada konsentrasi berbagai hormon tersebut. Progresivitas yang mengarah pada terjadinya menopause akan terjadi penurunan konsentrasi hormon estradiol yang semakin besar, demikian pula akan terjadi peningkatan konsentrasi FSH secara progresif (Gambar 3) (Burger, 2006).



Gambar 3. Progresivitas konsentrasi hormon FSH dan Estradiol pada periode menopause (Burger, 2006)

2.1.1 Menopause pada Tikus Wistar

Tikus Wistar / *Rattus norvegicus* / *laboratory rat* merupakan hewan coba yang hingga saat ini sering digunakan pada berbagai penelitian biomedis, studi tentang kanker dan toksikologi. Penggunaan tikus sebagai hewan coba telah dilakukan sejak abad ke-16, kendati secara resmi penggunaan hewan coba tikus baru dilakukan pada tahun 1906 ketika *Wistar Institute* mengembangkan model tikus Wistar (Sengupta, 2013).

Penentuan usia tikus Wistar merupakan hal yang penting sebagai akibat dari penentuan usia maturitas seksual serta penentuan usia menopause dari tikus tersebut. Tikus Wistar dapat hidup dengan rentang usia 2-3,5 tahun sebagian besar sekitar usia 3 tahun. Bila dibandingkan dengan rentang usia manusia (80 tahun) dapat ditarik

kesimpulan bahwa 1 tahun usia manusia setara dengan 2 minggu usia tikus Wistar. Akselerasi dari bertambahnya usia tikus Wistar terutama terjadi pada rentang usia anak (*childhood range*). Hal tersebut tercermin dari maturitas seksual dari tikus Wistar yang dicapai pada usia 6 minggu. Tikus Wistar mengalami siklus menstruasi setiap 4-5 hari, dengan durasi menstruasi yang terjadi selama 10-20 jam. Proses ovulasi pada tikus Wistar betina terjadi 8-11 jam setelah onset siklus menstruasi yang baru (Sengupta, 2013).

Penurunan fungsi ovarium pada tikus Wistar betina mulai usia 6-11 bulan (Wu *et al.*, 2006). Menopause pada tikus disebabkan oleh habisnya folikle primordial ovarium yang berperan dalam menghasilkan berbagai hormon penting dalam siklus menstruasi seperti menopause pada manusia. Proses menopause pada tikus Wistar ditandai oleh hilangnya siklus menstruasi atau siklus fertilitas dari tikus. Menjelang terjadinya menopause tikus Wistar akan cenderung menunjukkan perilaku "*persistent estrous*" yaitu perilaku untuk selalu menerima kontak seksual dari tikus jantan. Paparan estrogen yang rendah pada fase menopause akan menyebabkan kornifikasi yang persisten pada epitel vagina. Hal tersebut sekaligus menjadi pertanda dari hilangnya siklus menstruasi pada tikus Wistar (Sengupta, 2013).

Definisi dari menopause pada tikus Wistar yaitu berakhirnya siklus menstruasi yang diperantarai oleh hilangnya folikel primordial yang akan dimatangkan untuk menginduksi terjadinya siklus menstruasi. Menopause pada tikus Wistar dapat diketahui melalui

pemeriksaan histologis jaringan ovarium dimana tidak ditemukan lagi adanya folikel sekunder, folikel *de Graff* maupun korpus luteum. Gambaran atrofi jaringan, penurunan vaskularisasi maupun deposit jaringan ikat dapat dijumpai pada gambaran histologis ovarium. Proses menopause pada tikus Wistar umumnya terjadi pada usia 15-20 bulan (Sengupta, 2013).

Tikus Wistar dikatakan *early postmenopausal* adalah satu minggu setelah menopause terakhir sedangkan *late postmenopausal* adalah 4 minggu setelah menopause terakhir (Silva *et al.*, 2014). Penelitian ini dilakukan menopause buatan pada tikus Wistar betina dengan melakukan bilateral ooforektomi.

2.2 Ovarium

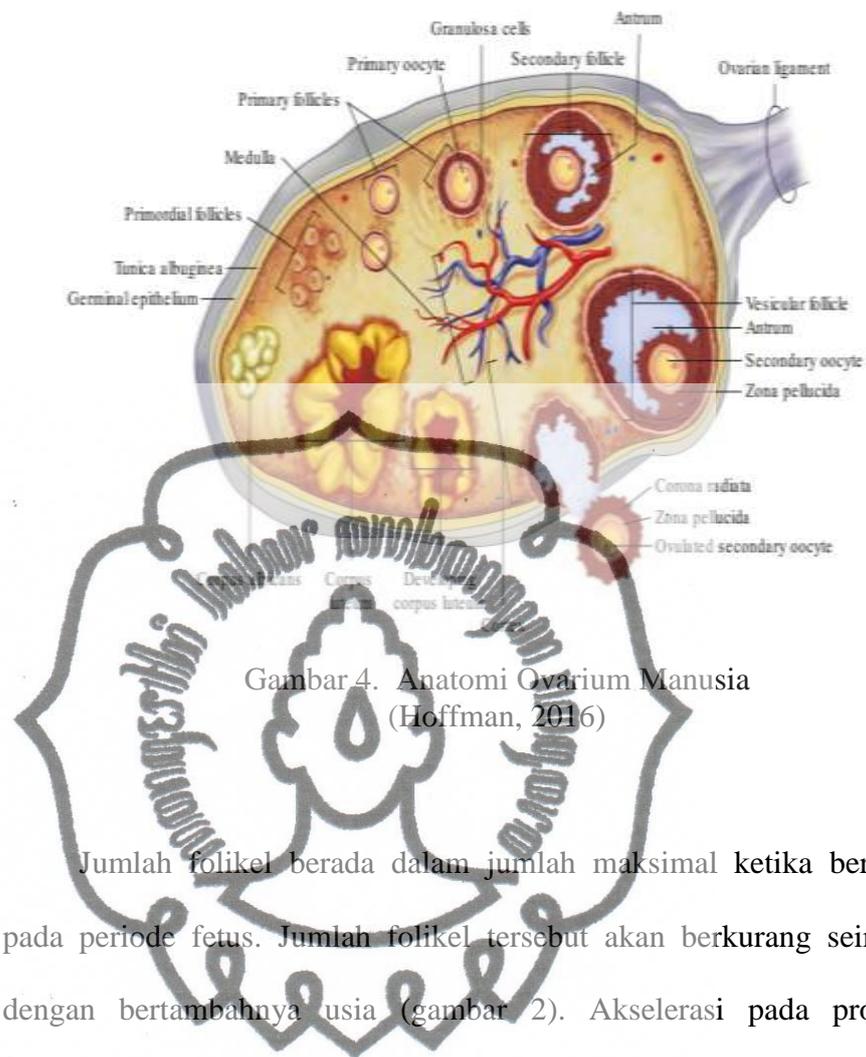
2.2.1 Ovarium pada Manusia

Ovarium manusia berukuran sekitar 4 x 2 x 0,8 cm. Ovarium merupakan organ berpasangan yang terletak di dinding lateral pelvis dengan berat 5-10 gram. Fungsi utama dari ovarium adalah memproduksi dan melepaskan oosit matang untuk fertilisasi dan perkembangan embrio serta menghasilkan hormon steroid (Bungum, 2013).

Ovarium terdiri dari korteks dan medula. Tunika albuginea merupakan bagian terluar dari korteks dengan ciri halus, permukaan putih kusam. Permukaan ovarium terdapat satu lapisan epitel kuboid yang disebut epitel germinal Waldeyer. Lapisan di bawah korteks ovarium mengandung oosit dan folikel yang berkembang. Medula

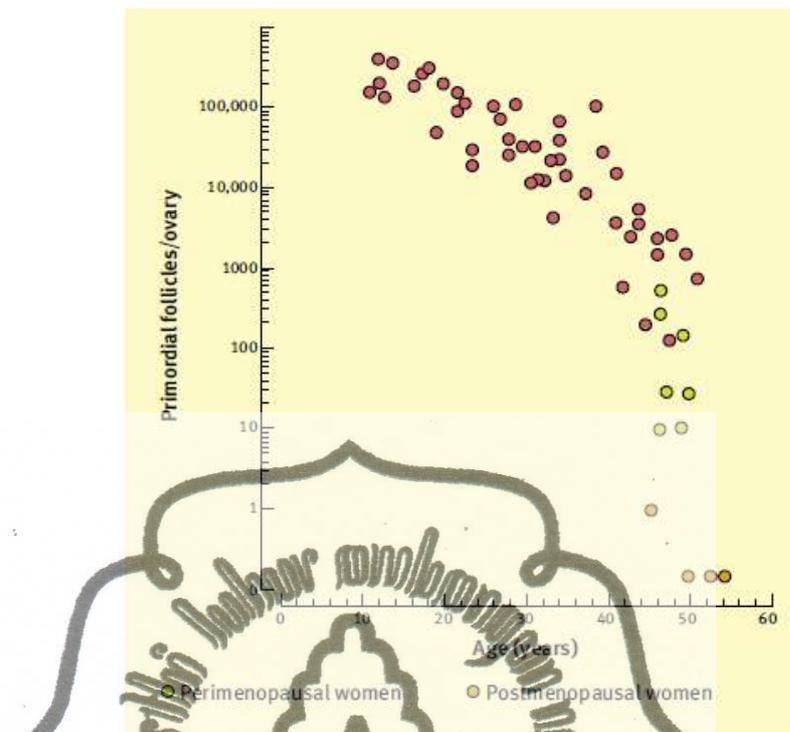
adalah bagian tengah ovarium yang terdiri dari jaringan ikat longgar, arteri, vena dan sejumlah kecil serat otot polos (Cunningham *et al.*, 2014).

Makroskopis ovarium tidak dilapisi oleh jaringan peritoneal. Ovarium dilapisi oleh lapisan jaringan serosa yang berakhir pada daerah ikatan ovarium dengan mesovarium. Mikroskopis ovarium mengandung jaringan stroma yang mengandung folikel dengan berbagai tahap perkembangan, korpus luteum, serta korpus albicans. Korpus albicans yaitu korpus luteum yang telah mengalami regresi dan hialinisasi yang kemudian akan diabsorpsi dalam waktu beberapa bulan. Jaringan epitelium dari ovarium wanita yang belum mengalami pubertas tersusun atas epitelium germinal sel kuboid. Epitel germinal tersebut akan menghilang dan hanya meninggalkan lapisan kapsula fibrosa yang dikenal sebagai tunika albuginea pada saat dewasa. Ovarium akan mengalami proses atrofi dan keriput setelah mencapai periode menopause serta tidak ditemukan lagi adanya folikel (Ellis, 2006).



Gambar 4. Anatomi Ovarium Manusia
(Hoffman, 2016)

Jumlah folikel berada dalam jumlah maksimal ketika berada pada periode fetus. Jumlah folikel tersebut akan berkurang seiring dengan bertambahnya usia (gambar 2). Akselerasi pada proses penurunan jumlah folikel akan tampak nyata terjadi pada usia 38 tahun. Proses menopause akan tampak jelas terjadi ketika tidak ditemukan lagi folikel penghasil hormon ovarium (Burger, 2006).



Gambar 5. Jumlah folikel fungsional yang menurun seiring bertambahnya usia (Burger, 2006)

Permukaan epitel ovarium akan berubah menjadi lebih halus pada saat menjelang terjadinya menopause. Jaringan ovarium akan mengalami kehilangan berat biologisnya yang disertai dengan proses atrofi selanjutnya akan terjadi progresivitas dari proliferasi jaringan fibrosis dan sklerosis pada jaringan vaskular dengan berbagai derajat serta disertai dengan terbentuknya formasi kista ovarium. Sel Berger yang terdapat pada parenkim ovarium juga akan mengalami penambahan volume sel seiring dengan peningkatan volume hillum sel (Gheorghe *et al*, 2007).

Jaringan vaskular pada ovarium juga akan mengalami perubahan pada proses menopause. Proses atrofi akibat menopause pada ovarium menyebabkan terjadinya atrofi pada jaringan vaskular yang ditandai

dengan penurunan diameter dari arteri ovarium. Jaringan helisin arteri juga akan mengalami atropi yang ditandai oleh degenerasi jaringan pada proses menopause (Jokubkiene *et al.*, 2006).

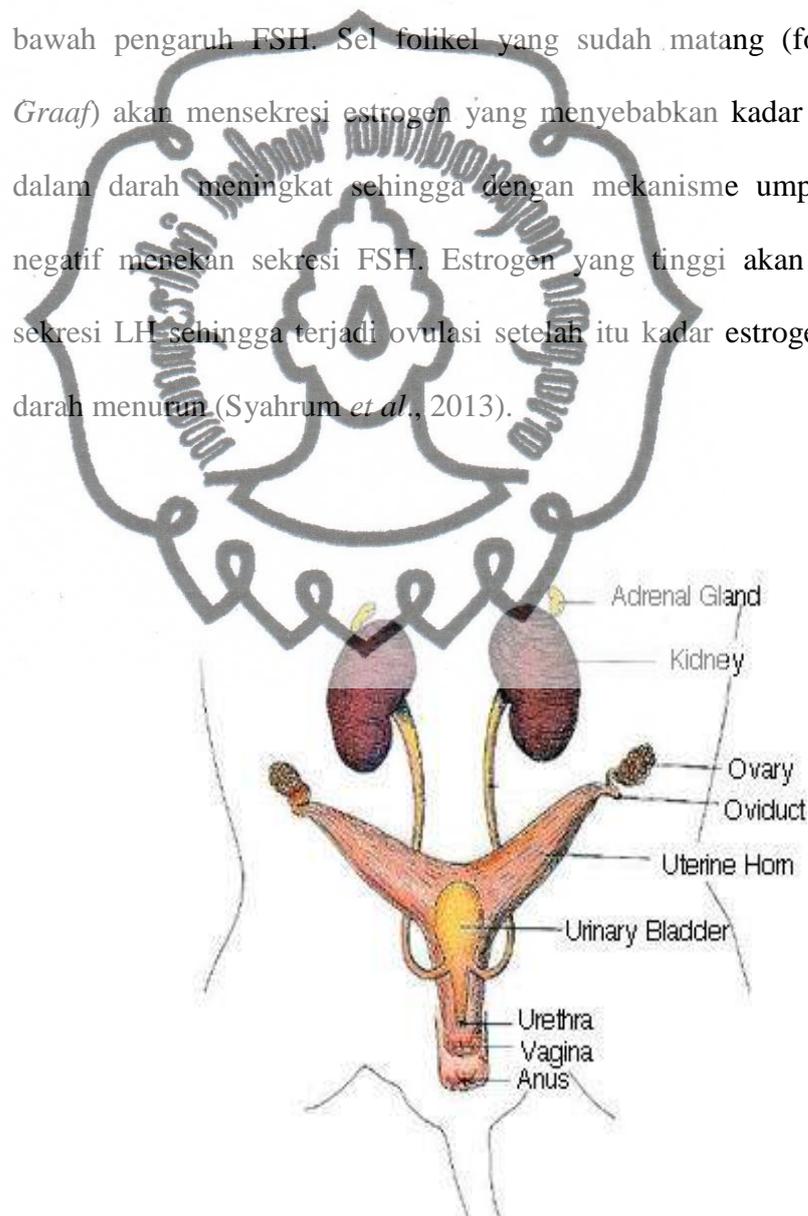
2.2.1 Ovarium Tikus Wistar

Sistem reproduksi pada tikus Wistar betina terdiri dari dua ovarium dan saluran kelamin betina. Saluran kelamin terdiri atas saluran telur, rahim, leher rahim dan vagina. Saluran kelamin betina berasal dari saluran Mullerian, dimulai dengan pintu saluran telur pada mamalia. Bursa ovarium pada tikus membentuk sebuah kapsul yang menyelubungi ovarium. Saluran telur kecil, berkelok-kelok, rahim terdiri dari dua tanduk uterus yang terpisah memungkinkan tikus untuk memiliki beberapa keturunan dalam satu kehamilan (Hamid *et al.*, 2013).

Ovarium berbentuk bulat dengan permukaan yang berbenjol. Ovarium diselubungi oleh selapis sel epitel germinativum dan di bagian dalamnya terdapat tunika albugenia. Ovarium tersusun atas bagian korteks dan medula. Korteks terdiri atas stroma yang bersifat seluler dan mengandung folikel ovarium, korpus luteum dan sel interstitial serta pembuluh darah. Folikel terdiri atas oosit atau sel telur yang diselubungi oleh sel folikel yang merupakan hasil diferensiasi epitel germinativum. Folikel ovarium terdiri atas folikel primordial yang akan menjadi folikel *de Graaf*. Medula terdiri atas jaringan ikat

fibroelastik yang penuh jaringan saraf, pembuluh darah dan limfe (Hafez, 2013).

Folikel ovarium tikus terdapat lebih dari satu folikel yang mengalami ovulasi dan menghasilkan 4-14 sel telur yang memungkinkan kelahiran lebih dari satu anak. Proses ovulasi diawali dengan perkembangan dan pematangan sel folikel dalam ovarium di bawah pengaruh FSH. Sel folikel yang sudah matang (folikel *de Graaf*) akan mensekresi estrogen yang menyebabkan kadar estrogen dalam darah meningkat sehingga dengan mekanisme umpan balik negatif menekan sekresi FSH. Estrogen yang tinggi akan memicu sekresi LH sehingga terjadi ovulasi setelah itu kadar estrogen dalam darah menurun (Syahrudin *et al.*, 2013).



Gambar 6. Traktus genitalia pada tikus Wistar (Pfaff *et al.*, 2016)

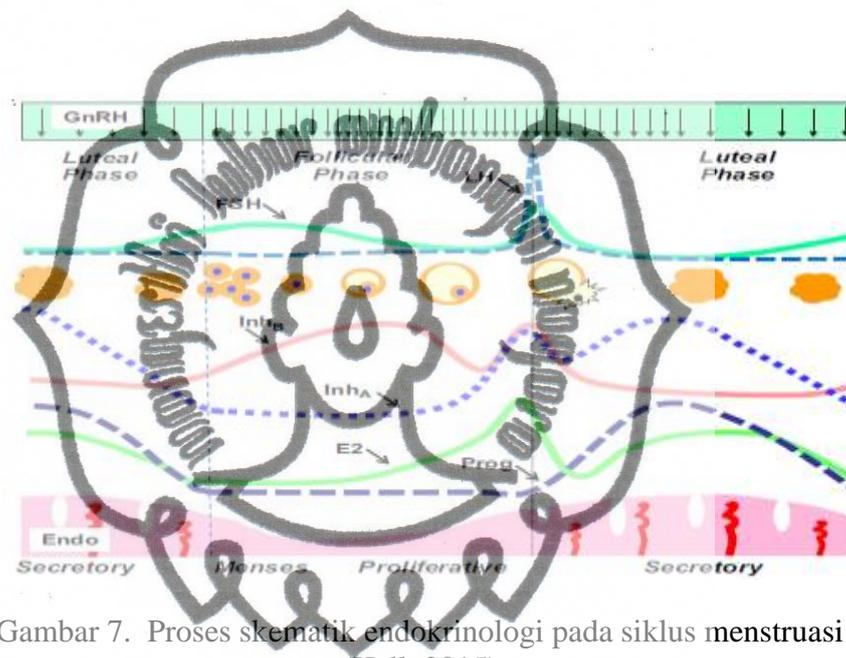
2.3 Fungsi Endokrinologi FSH

Biokimia FSH dibentuk dari gabungan ikatan glikoprotein dengan subunit alfa dan beta. Hormon FSH diproduksi oleh hipofisis anterior atas stimulus dari hormon GnRH yang dihasilkan pada hipotalamus. Hormon FSH memiliki waktu paruh antara 1,5-4 jam dengan konsentrasi serum normal antara 5-25 mIU/mL. FSH merupakan hormon penting yang bertanggung jawab pada fase folikular siklus menstruasi (Mahutte dan Ouhilal, 2007).

Fase folikular dimulai sejak onset dari menses hingga terjadinya ovulasi. Inti dari fase ini ialah terjadinya folikulogenesis. Folikel dominan yang terdapat pada kortek ovarium akan direkrut untuk dimatangkan menjadi folikel sekunder, folikel *de Graaf* dan korpus luteum melalui stimulasi yang dilakukan oleh FSH. Perkembangan folikel untuk berkembang ke tahap selanjutnya sangat bergantung dari potensi hormon FSH. Diferensiasi folikel primer dan sekunder menyebabkan terjadinya proliferasi jaringan folikel terutama terbentuknya lapisan granulosa. Lapisan granulosa merupakan lapisan penting yang berfungsi untuk menghasilkan estradiol. Estradiol berfungsi untuk menyebabkan terjadinya proliferasi pada lapisan endometrium (Mahutte dan Ouhilal, 2007).

Berbagai hormon reproduksi wanita bekerja secara simultan baik pada proses proliferasi folikel, proliferasi dan sekresi endometrium, ovulasi, serta peluruhan endometrium pada siklus menstruasi wanita yang belum

mengalami menstruasi. Hormon yang terlibat dalam proses tersebut antara lain hormon gonadotropin, FSH, LH, inhibin A, Inhibin B, estradiol dan progesteron (gambar 9). Hormon FSH terutama bekerja pada fase folikular ovarium. FSH berperan dalam merekrut folikel yang paling berkembang untuk dimatangkan menjadi folikel *de Graaf* sekaligus memastikan hanya satu folikel yang berkembang pada tiap fase menstruasi (Hall, 2015).



Gambar 7. Proses skematik endokrinologi pada siklus menstruasi (Hall, 2015)

Inhibin B berperan penting untuk memberikan umpan balik negatif pada hipotalamus agar tidak mensekresikan hormon gonadotropin yang menstimulasi produksi FSH oleh hipofisis. Penurunan sekresi inhibin pada lapisan granuler folikel saat perimenopause akan mengurangi efek umpan balik negatif hipotalamus menyebabkan sekresi FSH oleh hipofisis sebagai efek kompensasi akibat penurunan sekresi inhibin. Proses ini meningkatkan proses pengambilan folikel pada ovarium dan mempercepat kehilangan folikel ovarium yang tersisa. Proses ini akan terus terjadi hingga tidak

ditemukan lagi folikel untuk dimatangkan yang menandai terjadinya menopause (Irene dan Freeman, 2009).

Pemeriksaan kadar FSH serum pada tahap awal fase folikuler mudah dilakukan dan merupakan prediktor yang sensitif untuk menilai cadangan ovarium (Hoffman *et al.*, 2016). FSH hari ke-3 menggambarkan kadar basal FSH sehingga diyakini sebagai biomarker cadangan ovarium antara lain menggambarkan fungsi cadangan ovarium terhadap hipotalamus hipofisis, ovarium. Kadar FSH basal dilaporkan sebagai prediktor cadangan ovarium yang lebih baik daripada usia pasien. Kadar FSH yang tinggi akurat dalam menyimpulkan cadangan ovarium yang rendah (Wiweko, 2016). Kadar FSH wanita usia lanjut akan meningkat karena berkurangnya respons ovarium apabila kadar FSH hari ke-3 sudah meningkat menandakan cadangan ovarium berkurang. Fluktuasi kadar FSH hari ke-3 pada beberapa siklus dianggap menggambarkan sudah terjadi penurunan cadangan ovarium. FSH meningkat sesuai dengan usia folikel, lebih awal dan lebih cepat daripada LH. Pengukuran kadar FSH hari ke-3 siklus merupakan pemeriksaan dasar pada pusat pelayanan infertilitas (Loho, 2010). Cadangan ovarium berkurang jika kadar FSH pada hari ke-3 siklus menstruasi lebih dari 12 mIU/ ml sedangkan kegagalan ovarium apabila kadar FSH lebih dari 40 mIU/ml (Prajatmo, 2015).

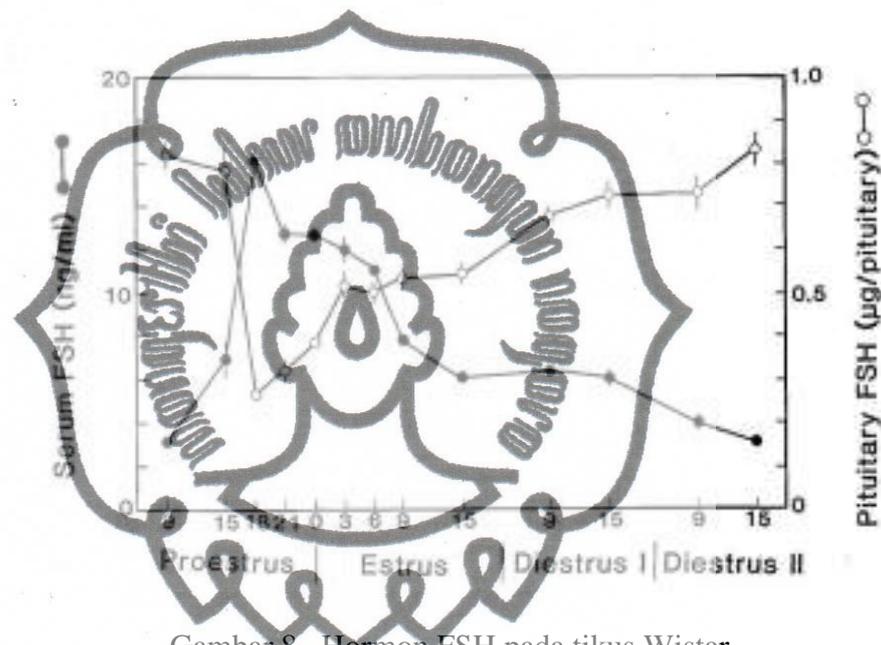
FSH merupakan suatu glikoprotein yang disekresikan oleh sel basofilik dari hipofisis anterior yang terdiri atas subunit alpha dan beta pada tikus Wistar. GnRH diproduksi di hipotalamus mengendalikan pelepasan FSH dari hipofisis anterior. FSH merangsang pertumbuhan dan pematangan

folikel ovarium dengan bertindak langsung pada reseptor yang terletak pada sel granulosa (Shibayagi, 2010).

Siklus menstruasi pada tikus juga tidak terlepas dari peran berbagai fungsi sistem hormonal seperti pada manusia dan mamalia lainnya. Proses tersebut diinduksi untuk pertama kalinya oleh hormon GnRH yang dihasilkan oleh hipotalamus yang kemudian akan mendorong sekresi FSH dan LH oleh hipofisis. FSH akan menginduksi proliferasi dari folikel ovarium menyebabkan terjadi proliferasi dari folikel hingga menjadi folikel *de Graaf* dimana secara histologis setiap folikel tersebut memiliki gugus lapisan fungsional yang memiliki peran sintesis dan sekretorik dari hormon lainnya yang menunjang proses siklus menstruasi. Proses proliferasi folikel akan menyebabkan terjadi peningkatan sekresi hormon estradiol. Kadar estradiol yang tinggi akan memberikan umpan balik kepada hipotalamus untuk mendorong sekresi hormon gonadotropin yang kemudian akan menstimulasi produksi hormon LH untuk mencetuskan terjadinya ovulasi (Hamid dan Zakaria, 2013).

Menopause terjadi pada rentang usia 15-20 bulan pada tikus Wistar. Proses tersebut terjadi sebagai akibat tidak adanya lagi folikel yang dikembangkan oleh FSH seperti pada manusia. Penurunan estradiol dan progesterone akibat tidak adanya sekresi hormon inhibin yang adekuat pada saat menopause menyebabkan proses umpan balik pada hipotalamus akan menghilang sehingga hipotalamus akan memproduksi hormon GnRH secara terus menerus yang mengakibatkan peningkatan hormon FSH (Sengupta, 2013).

Kadar normal FSH tikus Wistar betina usia reproduksi 2-17 ng/mL (Gambar 8) (Shibayagi *et al.*, 2010). Fungsi ovarium tikus wistar mulai menurun pada usia 6-11 bulan (Wu *et al.*, 2006). Puncak kadar FSH terjadi pada siklus proestrus dan kadar terendah pada siklus diestrus (Goldman *et al.*, 2007).



Gambar 8. Hormon FSH pada tikus Wistar (Shibayagi *et al.*, 2010)

2.4 Fungsi Endokrinologi Estradiol

Estradiol berperan penting pada proses menstruasi terutama pada proliferasi dinding endometrium terutama pada proses implantasi zigot. Estradiol diproduksi oleh lapisan granulosa folikel sekunder dan folikel *de Graff*, proliferasi tersebut dipicu oleh FSH. Lapisan granulosa akan menghasilkan hormon inhibin yang akan menghambat sekresi hormon FSH pada hipotalamus. Estradiol juga memiliki peran dalam menjaga agar tidak

terjadi peluruhan dinding endometrium. Proses menstruasi disebabkan oleh penurunan kadar hormon estradiol (gambar 3) (Hall, 2015).

Periode transisi menopause akan terjadi perubahan hormonal sebagai akibat kompensasi tubuh. FSH akan meningkat pada periode transisi tersebut sedangkan konsentrasi estradiol akan menetap atau sedikit meningkat. Proses ini setidaknya akan terjadi 1-2 tahun sebelum menstruasi terakhir terjadi. Nilai estradiol yang menetap ini merupakan proses kompensasi dari peningkatan aktivitas FSH yang mempercepat perekrutan folikel serta proliferasinya hingga akan terjadi masa yang disebut sebagai “*Ovarial Exhaustion*”. Folikel yang digunakan untuk membentuk hormon estradiol menghilang pada fase tersebut sekaligus menjadi menstruasi terakhir pada seorang wanita (Irene dan Freeman, 2009). Penelitian retrospektif yang dilakukan untuk mengetahui status hormon estradiol pada wanita yang memasuki periode transisi menopause dan post menopause didapatkan hubungan yang berbanding terbalik antara kadar FSH dan estradiol. Periode transisi menopause umumnya kadar FSH dan estradiol memberikan gambaran konsentrasi yang bervariasi walaupun pada periode tersebut sudah didapatkan gambaran terjadi peningkatan kadar FSH. Peningkatan kadar FSH akibat pembentukan estradiol oleh folikel *de Graaf* pada periode post menopause namun pada periode tersebut tidak ditemukan lagi adanya folikel sehingga estradiol tidak dapat diproduksi (gambar 5) (Angsuwatana *et al.*, 2006).

Penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa hormon seksual seperti estradiol pada wanita perimenopause memiliki efek protektif terhadap

kejadian penyakit kardiovaskular bila dibandingkan dengan populasi spesifik serupa yang telah mengalami menopause (Yang dan Reckelhoff, 2011). Penelitian menunjukkan bahwa estrogen meningkatkan ekspresi enzim antioksidan yaitu superoksida dismutase serta menghambat proses oksidatif *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* yang menghambat terjadinya stress oksidatif. Proses stress oksidatif dapat menyebabkan disfungsi endotel yang menyebabkan terbentuknya plak atherosklerosis yang menjadi awal terjadinya penyakit jantung koroner (Bailey *et al.*, 2003). Estrogen juga terbukti dapat mereduksi munculnya penanda inflamasi pada tubuh (Reckelhoff, 2006).

Kadar Estradiol pada fase awal folikular dapat mengetahui cadangan ovarium. Peningkatan kadar estradiol pada siklus menstruasi berhubungan dengan menurunnya jumlah folikel. Peningkatan kadar estradiol pada fase awal menggambarkan perkembangan folikel dan seleksi folikel dominan yang terjadi lebih cepat akibat peningkatan kadar FSH (Wiweko, 2014).

2.5 Simpan Beku Ovarium

Metode penyimpanan ovarium pertama kali dilakukan pada tahun 1948 ketika gliserol ditemukan sebagai zat pelindung beku oleh Audrey Smith. Empat puluh tahun kemudian metode ini baru berkembang menjadi pilihan penyimpanan ovarium yang aman. Simpan beku ovarium pada suhu -196°C telah banyak dikerjakan pada hewan dengan luaran yang cukup baik. Metode ini juga sudah dikerjakan pada manusia walaupun belum memberikan hasil yang efektif (Wiweko, 2014).

Prinsip simpan beku adalah melindungi sel dengan cara menurunkan temperatur di bawah 0 °C untuk menghentikan metabolisme intra selular. Proses pendinginan dan *thawing* dalam simpan beku dapat menyebabkan kerusakan sel terutama pada suhu antara -15 °C dan -60 °C. Sel yang disimpan beku akan mengalami perubahan biologi dan kimiawi. Suhu yang sangat dingin akan menyebabkan sel mampu bertahan hidup dan terhindar dari proses degenerasi. Suhu -196 °C akan menyebabkan semua metabolisme sel terhenti sehingga sel dapat bertahan hidup. Apabila sel tidak dilindungi oleh zat pelindung beku maka akan terjadi kerusakan yang bersifat ireversibel. Kecepatan penurunan dan peningkatan suhu memegang peran penting bagi viabilitas sel dalam proses simpan beku karena mengatur kecepatan cairan ke luar sel. Semakin cepat perubahan temperatur akan mempercepat proses pembekuan intra sel. Bila hal itu terjadi, penumpukan kristal es dan garam intra sel akan meningkat secara bermakna dan menyebabkan trauma sel lebih besar (Son dan Tan, 2009).

2.5.1 Pilihan metode simpan beku ovarium

2.5.1.1 Pembekuan lambat

Metode pembekuan lambat (*slow freezing*) merupakan metode simpan beku yang pertama kali diperkenalkan. Metode ini merupakan cara untuk membentuk keseimbangan antara beberapa faktor yang dapat menyebabkan kerusakan sel, diantaranya formasi kristal es, toksisitas dan kerusakan osmotik. Simpan beku konvensional merupakan metode yang mahal karena penggunaan mesin pengontrol suhu yang

canggih, pelaksanaan prosedur yang lama dan dapat menyebabkan kerusakan folikel karena terbentuknya formasi kristal es (Andriyana, 2015).

Proses pendinginan pada metode ini yaitu 0,3-2 °C/menit dan pembekuan pada oosit serta embrio manusia membutuhkan waktu minimal 90 menit (Son dan Tan, 2009). Terdapat dua masalah pada sel yang mengalami pembekuan, yaitu kristalisasi air membentuk es dan peningkatan konsentrasi garam. Oleh karena itu, kunci sukses simpan beku adalah menghindari terjadinya formasi es intrasel dan efek samping pembekuan ekstrasel (Andriyana, 2015).

2.5.1.2 Prosedur Pembekuan Cepat (Vitrifikasi)

Metode vitrifikasi pertama kali dilakukan pada tahun 1985 pada embrio tikus. Kehamilan pertama pada manusia dari hasil metode vitrifikasi oosit terjadi pada tahun 1999 (Son dan Tan, 2009). Vitrifikasi merupakan teknik simpan beku dengan pendinginan cepat yang menghasilkan pepadatan tanpa kristalisasi, menghindari cedera beku yang dihasilkan dari pembentukan es (Posillico *et al.*, 2010).

Prosedur vitrifikasi terdiri dari 5 tahap penting yaitu pajanan inisial terhadap zat pelindung beku, pembekuan hingga suhu -196 °C, penyimpanan, penghangatan jaringan (*thawing*), pencucian dan menghilangkan zat pelindung beku (Donnez *et al.*, 2006).

Masalah utama vitrifikasi adalah pada penggunaan zat pelindung beku hipertonik yang bersifat sitotoksik. Kondisi ini dapat diatasi antara lain dengan menghindari penggunaan zat pelindung beku hipertonik yang dapat menembus membran sel. Zat pelindung beku yang tepat juga dapat mengontrol proses penghangatan dan mempertahankan pembentukan lapisan kaca yang stabil. Dua alat yang paling banyak digunakan untuk vitrifikasi jaringan ovarium adalah *cryotissue* dan *cryovial* (Wiweko, 2014).

Pendinginan yang sangat cepat dan penggunaan zat pelindung beku hipertonik pada vitrifikasi akan melindungi sel yang dapat merubah bentuk zat cairan langsung menjadi seperti dilapisi kaca sehingga menurunkan risiko kerusakan folikel akibat suhu yang sangat rendah (Son dan Tan, 2009). Vitrifikasi korteks ovarium menggunakan zat pelindung beku DMSO, PROH dan EG menghasilkan luaran folikel yang baik. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa DMSO (Dimetil Sulfoksida), PROH (Propanediol) dan EG (Etilen Glikol) sebagai zat pelindung beku bekerja efektif mengurangi kerusakan folikel. Vitrifikasi merupakan pilihan yang tepat pada organ yang memiliki jaringan dan pembuluh darah kompleks seperti ovarium. (Milenkovic dan Brannstrom, 2009).

Metode vitrifikasi merupakan alternatif yang mudah untuk simpan beku jaringan ovarium. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perubahan ultrastruktur, termasuk fragmentasi inti, gangguan mitokondria, penyusutan membran sel, dan terbentuknya vakuola di sitoplasma oosit, sel folikel dan stroma setelah menjalani vitrifikasi dan *thawing* jaringan ovarium. Juga tidak didapatkan perubahan apoptosis pada sel ovarium pada tingkat ultrastruktural. Wang menunjukkan folikel primordial dan struktur sel stroma pada jaringan ovarium diawetkan dengan lebih baik melalui vitrifikasi jika dibandingkan dengan *slow freezing*. Melalui mikroskop elektron, Keros menunjukkan stroma ovarium diawetkan dengan lebih baik secara signifikan melalui vitrifikasi dibandingkan dengan *slow freezing* (Abdollahi *et al.*,2013).

2.5.2 Pilihan Jaringan Dalam Simpan Beku Ovarium

2.5.2.1 Korteks ovarium

Simpan beku korteks ovarium dinilai lebih mudah dilakukan daripada simpan beku ovarium utuh. Kagawa, Silber dan Kuwayama melaporkan keberhasilan teknik vitrifikasi dipengaruhi oleh ketebalan jaringan ovarium yang dibekukan, dimana ketebalan < 1 mm akan meningkatkan angka viabilitas sel setelah proses simpan beku dan pelelehan. Hal ini disebabkan semakin tipisnya jaringan ovarium, maka permeasi larutan pelindung beku dengan konsentrasi yang tepat dan

perpindahan cairan intrasel ke ekstrasel akan lebih cepat sehingga dapat mencegah formasi kristal es (Andriyana, 2015).

2.5.2.2 Ovarium utuh

Simpan beku ovarium utuh merupakan tantangan. Ovarium manusia lebih besar dan lebih kompleks dari ovarium hewan. Tantangan tersendiri untuk menyusun protokol simpan beku yang akan melestarikan folikel ovarium dan struktur pembuluh darah (Pradipta *et al.*, 2012). Masalah utama dalam pembekuan ovarium manusia adalah besarnya volume organ tersebut sehingga menghambat penetrasi zat pelindung beku ke seluruh bagian jaringan. Hal tersebut meningkatkan risiko kerusakan struktur sel dan komponen jaringan akibat simpan beku (Posillico, 2010).

2.5.2.3 Folikel pre-antral

Penelitian terhadap simpan beku folikel pre-antral masih sangat terbatas dibandingkan simpan beku korteks ovarium karena tindakan isolasi folikel membutuhkan waktu dan keahlian khusus. Metode ini memiliki keunggulan antara lain memungkinkan penilaian kualitas dan kuantitas folikel pasca simpan beku, penilaian langsung terhadap folikel selama kultur *in vitro* serta diperkirakan mampu mendapatkan jumlah oosit matur yang lebih banyak karena proses atresia yang minimal (Wiweko, 2014).

2.6 Transplantasi Jaringan Ovarium

Jaringan ovarium dapat ditransplantasikan secara orthotopik ke panggul atau secara heterotopik ke daerah subkutan seperti lengan atau perut. Pemulihan fungsi ovarium telah dilaporkan berhasil dari kedua tempat transplantasi. Jaringan peritoneal lebih unggul sebagai tempat transplantasi daripada jaringan subkutan karena revaskularisasi yang lebih baik sehingga lebih sedikit folikel primordial yang mati. Lokasi transplantasi, cangkok jaringan ovarium akan mengalami iskemia dan berpotensi terjadi folikular atresia setelah transplantasi sebelum terjadinya revaskularisasi jaringan. Hal ini masih menjadi tantangan bagi keberhasilan teknik transplantasi. Jumlah jaringan yang telah disimpan beku memungkinkan untuk menyimpan sebagian jaringan untuk ditransplantasi ulang dari jaringan tersebut pada masa depan jika transplantasi yang dikerjakan gagal (Kondapalli, 2012).

2.6.1 Jenis Transplantasi

2.6.1.1 Transplantasi Ovarium Orthotopik

Transplantasi orthotopik melibatkan pencangkokan korteks ovarium dekat pembuluh darah utama ovarium, pembuluh darah ovarium yang terdapat dalam ligamen infundibulopelvik atau pada medula. Transplantasi orthotopik mendapat suplai darah dari sistem vaskular yang ada untuk mengembalikan perfusi dan fungsi jaringan yang ditransplantasikan. Transplantasi orthotopik ovarium autograft memungkinkan kehamilan alami jika saluran tuba utuh.

Transplantasi dapat dilakukan dengan laparoskopi atau mini laparotomi. Transplantasi orthotopik autolog jaringan korteks yang telah disimpan beku menghasilkan serangkaian kelahiran hidup dan saat ini merupakan teknik yang paling efektif untuk transplantasi (Kondapalli, 2012).

2.6.1.2 Transplantasi Ovarium Heterotopik

Tempat yang paling sering digunakan untuk transplantasi heterotopik adalah jaringan subkutan seperti lengan dan perut. Pendekatan ini praktis terutama pada pasien yang akan menjalani radiasi panggul karena jaringan ovarium akan dipindahkan dan dilindungi dari lapangan radiasi. Transplantasi heterotopik memberikan beberapa keuntungan signifikan (Kondapalli, 2012):

1. Menghindari operasi perut besar dan general anestesi.
2. Perkembangan follikular dapat dengan mudah dipantau oleh sonografi transdermal atau bahkan secara visual karena tempat transplantasi berkembang dengan pertumbuhan folikel.
3. Jaringan transplantasi dapat dengan mudah diambil dan atau diganti bila diperlukan.

Kelemahan teknik ini adalah diperlukan IVF untuk mendapatkan kehamilan dengan menggunakan oosit dari jaringan yang ditransplant. Kelahiran hidup pada primata

setelah transplantasi ovarium heterotopic telah dilaporkan (Kolp dan Hubayter, 2011).

2.6.1.3 Transplantasi Ovarium Utuh

Simpan beku ovarium utuh terbukti menjadi teknik yang layak dalam pelestarian kesuburan dengan tingkat kelangsungan hidup folikel yang tinggi dan tampilan histologis yang baik serta telah ditunjukkan dalam beberapa penelitian pada manusia dan hewan. Beberapa kesulitan dalam simpan beku ovarium utuh ditunjukkannya dengan tingkat kelangsungan hidup folikel yang sangat rendah setelah transplantasi. Prosedur vitrifikasi dan slow freezing telah diteliti dan berhasil dilaksanakan di simpan beku ovarium utuh (Ozmen *et al.*, 2010).

2.6.1.4 Xenotransplantasi

Xenotransplantasi adalah metode jaringan ovarium manusia ditransplantasikan ke tikus yang immunodefisien. *Severe Combined Immunodeficiency Disease*. Penyakit immunodefisiensi berat gabungan menyebabkan tikus dapat mempertahankan jaringan dari spesies asing tanpa menunjukkan respon penolakan dengan demikian berfungsi sebagai model ideal untuk penelitian transplantasi ovarium. Jaringan ovarium dapat ditransplantasikan subkutan, intramuskular atau ditempatkan di bawah kapsul ginjal untuk merangsang terjadinya neovaskularisasi. *Xenotransplantasi*
commit to user

telah dipelajari sebagai cara untuk menghilangkan risiko penularan dan kekambuhan kanker (dari sisa sel ganas dalam jaringan transplant) dan sebagai kemungkinan aplikasi pasien dengan kanker yang sensitif pada hormon. Perkembangan folikel dapat dengan mudah dipantau dan jaringan mudah diakses untuk pengambilan oosit. Resiko penularan penyakit menular dari hewan ke manusia melalui jaringan ovarium tetap menjadi pertimbangan serius (Radwan *et al.*; 2016).

2.6.2 Autotransplantasi Jaringan Ovarium pada Menopause

Proses menopause telah dikaitkan dengan berbagai tanda dan gejala serta dampak yang cukup mengganggu pada mayoritas wanita. Wanita menopause akan mengalami berbagai gejala seperti *hot flush*, badan terasa panas, hiperprespirasi serta manifestasi vasomotor lainnya, dan menjadi alasan atas diberikannya HRT pada populasi tersebut (NAMS, 2012). Menopause juga dikaitkan dengan kejadian berbagai komplikasi penyakit seperti penyakit kardiovaskular, osteoporosis dan alzheimer. Semua hal tersebut secara signifikan dapat menurunkan kualitas hidup seorang wanita (Fantasia dan Sutherland, 2016).

Penggunaan HRT terbukti dapat memberikan efek protektif terhadap terjadinya osteoporosis serta secara signifikan dapat meningkatkan *Bone Mineral Density*. Hal ini dapat menjadi indikasi terapi terutama pada wanita dengan risiko tinggi untuk mengalami osteoporosis dan fraktur, yaitu pada populasi yang telah mengalami

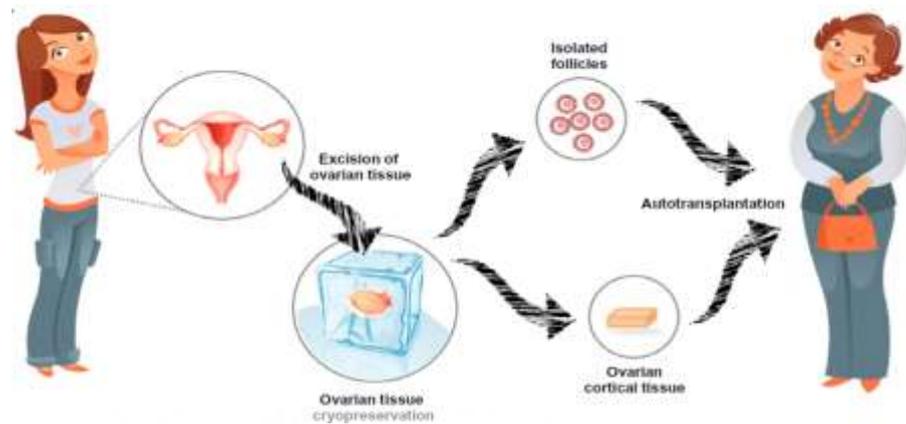
menopause sebelum usia 60 tahun dan telah mengalami menopause dengan durasi >10 tahun (Gambacianni dan Levancini, 2014). Penggunaan HRT juga dilaporkan berkaitan dengan peningkatan risiko kejadian karsinoma payudara (Lobo *et al.*, 2014)

Diluar dari efektivitas serta efikasinya dalam mengobati dan mencegah berbagai komplikasi terkait menopause dari penggunaan HRT, saat ini telah dikembangkan upaya autotransplantasi dan kriopreservasi jaringan ovarium untuk mengembalikan fungsi ovarium atas dasar indikasi berbagai tindakan medis tertentu. Transplantasi jaringan ovarium untuk pertama kalinya dilakukan pada tahun 2004. Metode autotransplantasi dan kriopresipitasi jaringan ovarium telah diaplikasikan pada manusia dengan indikasi pada kasus untuk menjaga dan mengembalikan fertilitas pada wanita produktif yang menjalani prosedur kemoterapi. Angka kelahiran dengan metode transplanatsi jaringan ovarium dilaporkan mencapai 24%, dengan aktivitas jaringan ovarium yang masih bertahan hingga 70% setelah satu tahun, menandakan aktivitas jaringan pasca transplantasi cukup berhasil (Wolff dan Stute, 2015).

Transplantasi jaringan ovarium juga diindikasikan pada kasus dengan kegagalan ovarium untuk menginduksi terjadinya pubertas pada wanita remaja pasca kemoterapi. Penelitian studi kasus tersebut didapatkan hasil bahwa transplantasi jaringan ovarium dapat mengembalikan fungsi siklus menstruasi dan pubertas serta mengembalikan fungsi endokrinologi dimana didapatkan penurunan

konsentrasi hormon FSH serta peningkatan estradiol dan progesteron, mengindikasikan keberhasilan fungsi transplantasi ovarium atas indikasi perbaikan fungsi siklus menstruasi pada wanita (Ernst *et al.*, 2013).

Prinsip dasar autotransplantasi ovarium dalam upaya menunda terjadinya menopause yaitu dengan mengambil jaringan ovarium pada saat usia muda kemudian disimpan dengan metode kriopreservasi dan ditransplantasikan ulang pada saat telah mencapai periode transisi menopause (gambar 10). Saat lahir ovarium mengandung sekitar 1 juta folikel. Folikel tersebut akan berkurang jumlahnya pada tiap siklus menstruasi tetapi hanya satu yang akan berkembang menjadi folikel *de Graaf*. Wanita normal akan mengalami ovulasi sebanyak 450 kali sejak pubertas sampai menopause. Sisa folikel lainnya yang diperkirakan jumlahnya mencapai 99.9%, akan mengalami degenerasi. Jaringan folikel tersebut berpotensi untuk diselamatkan dengan ditransplantasikan di kemudian hari untuk menghambat terjadinya menopause walaupun demikian efikasi maupun dampak jangka panjangnya sebagai akibat paparan terus menerus dari estradiol seperti kanker payudara apabila terapi ini berhasil masih harus diteliti dan dipertimbangkan risiko serta manfaatnya (Andersen dan Kristensen, 2015).



Gambar 9. Model skematik autotransplantasi ovarium untuk menunda menopause (Andersen dan Kristensen, 2015)

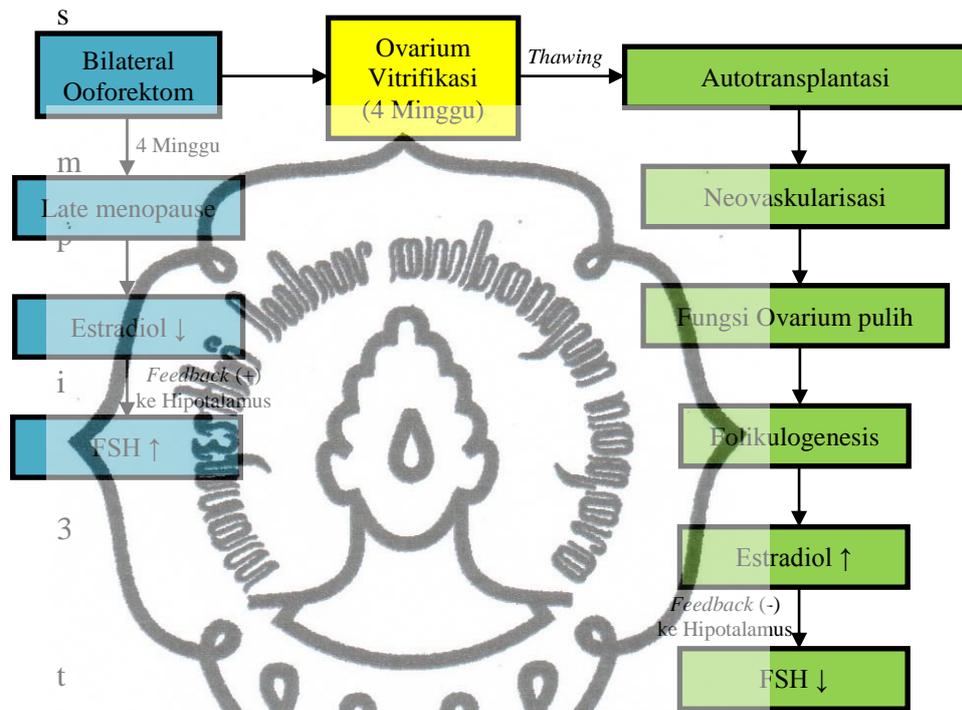
2.6.2 Hasil Autotransplantasi Jaringan Ovarium

Prosedur transplantasi jaringan ovarium telah berhasil dilakukan di pusat penelitian negara Skandinavia. Data transplantasi jaringan ovarium yang telah dilakukan simpan beku terdapat di rumah sakit Rigs, Copenhagen. Terdapat 14 anak yang lahir dari ibu yang mendapatkan kembali fungsi reproduksinya setelah menjalani prosedur autotransplantasi ovarium (Wallberg *et al.*, 2016).

Penelitian di rumah sakit St Luke's Amerika Serikat pada wanita yang menjalani autotransplantasi ovarium didapatkan siklus menstruasi kembali dalam waktu 3 bulan dan kadar FSH kembali normal dalam waktu 4,5 bulan pada semua kasus. Lahir 14 bayi sehat dari 12 kasus transplantasi ovarium, 11 bayi lahir dari 9 kasus transplantasi ovarium segar dan 3 kasus transplantasi ovarium yang sebelumnya dilakukan simpan beku. Autotransplantasi ovarium dengan proses simpan beku sebelumnya di Denmark berlangsung lebih dari 5 tahun dan dilaporkan terdapat 28 bayi lahir dengan poses

kehamilan alami tanpa proses IVF atau pengobatan tambahan lainnya (Silber, 2012).

Beberapa penelitian menunjukkan waktu bertahannya fungsi jaringan ovarium setelah autotransplantasi bervariasi yaitu 9 bulan

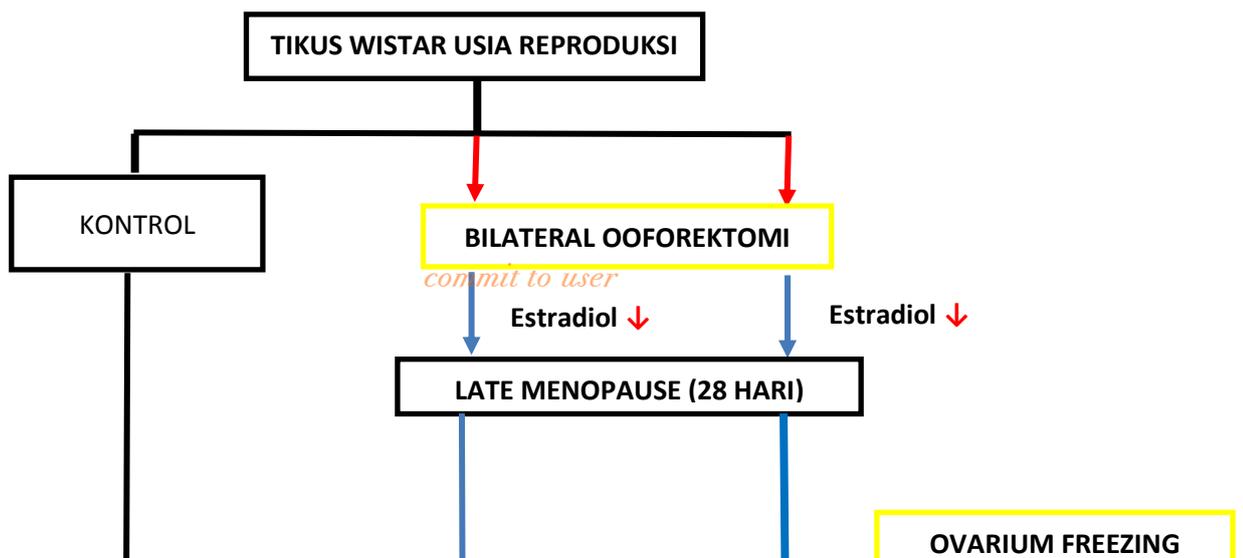


ahun (Kondapalli, 2012), 4-5 tahun (Branstrom dan Milenkovic, 2010), 7 bulan sampai lebih dari 10 tahun (Radwan et al., 2016). Hal ini berhubungan dengan beberapa faktor yaitu : jumlah oosit imatur yang bertahan hidup dari proses iskemia, proses simpan beku dan thawing serta proses revaskularisasi (Radwan et al., 2016). Kehilangan folikel pada jaringan ovarium karena proses simpan beku dengan metode vitrifikasi dan thawing relatif kecil (Kondapalli, 2012).

2.7 Kerangka Teori



2.8 Kerangka Konsep





Penjelasan Kerangka Konsep

Fungsi utama dari ovarium adalah memproduksi dan melepaskan oosit matang untuk fertilisasi dan perkembangan embrio dan juga untuk menghasilkan hormon steroid. Tindakan BSO merupakan tindakan operatif pengambilan kedua ovarium tikus yang menghasilkan suatu keadaan yang

commit to user

disebut *surgical menopause*. Tahap *late postmenopausal* pada tikus Wistar adalah empat minggu atau 28 hari sejak menstruasi terakhir. Kadar FSH pada keadaan menopause meningkat dikarenakan tidak adanya feed back negatif ke hipotalamus-hipofisis dari estradiol yang dihasilkan oleh ovarium pasca tindakan BSO. Simpan beku ovarium merupakan salah satu cara preservasi reproduksi, terutama pada wanita yang berpotensi mengalami kerusakan ovarium. Metode vitrifikasi merupakan teknik simpan beku dengan pendinginan cepat yang menghasilkan pepadatan tanpa kristalisasi, menghindari cedera beku yang dihasilkan dari pembentukan es. Metode vitrifikasi memiliki keunggulan dibandingkan dengan metode konvensional (*slow freezing*). Jaringan ovarium dapat ditransplantasikan secara orthotopik ke panggul atau secara heterotopik ke daerah subkutan seperti lengan atau perut. Pemulihan fungsi ovarium telah dilaporkan berhasil dari kedua tempat transplantasi. Autotransplantasi diharapkan dapat memulihkan fungsi ovarium yang diukur dengan kadar FSH sebagai cermin terjadinya folikulogenesis karena neovaskularisasi jaringan dimana kadar FSH akan menurun setelah dilakukan autotransplantasi.

2.9 Hipotesis

Autotransplantasi berpengaruh terhadap kadar FSH pada tikus Wistar model *late* menopause yaitu autotransplantasi menurunkan kadar FSH.